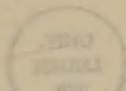


DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK oHG
8 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2 8 0 9 0 9 0

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin
des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h. c. A. Mayr

UNTERSUCHUNGEN ÜBER NACHWEIS, BILDUNG UND VORKOMMEN
VON BORNAVIRUS-ANTIKÖRPERN



Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Klaus Lühgen
aus
Gelsenkirchen
München 1977



Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Tiermedizin der Universität
München

Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent: Prof. Dr. Dr. h. c. A. Mayr
Korreferent: Priv.-Doz. Dr. D. Stavrou

Tag der Promotion: 29. Juli 1977

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Zielsetzung	2
3. Darstellung der verschiedenen Phasen des Projekts	3
3.1. Zielsetzung	3
3.2. Analyse der Situation	4
3.3. Planung	5
3.4. Durchführung	6
3.5. Evaluation	7
3.6. Dokumentation	8
3.7. Berichterstattung	9
3.8. Abschluss	10
4. Ergebnisse	11
4.1. Ergebnisse der Analyse	11
4.2. Ergebnisse der Planung	12
4.3. Ergebnisse der Durchführung	13
4.4. Ergebnisse der Evaluation	14
4.5. Ergebnisse der Dokumentation	15
4.6. Ergebnisse der Berichterstattung	16
4.7. Ergebnisse des Abschlusses	17
5. Zusammenfassung	18
5.1. Zusammenfassung der Ergebnisse	18
5.2. Zusammenfassung der Erkenntnisse	19
5.3. Zusammenfassung der Empfehlungen	20
5.4. Zusammenfassung der Schlussfolgerungen	21
5.5. Zusammenfassung der Ergebnisse der Evaluation	22
5.6. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	23
5.7. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	24
5.8. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	25
5.9. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	26
5.10. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	27
5.11. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	28
5.12. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	29
5.13. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	30
5.14. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	31
5.15. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	32
5.16. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	33
5.17. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	34
5.18. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	35
5.19. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	36
5.20. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	37
5.21. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	38
5.22. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	39
5.23. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	40
5.24. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	41
5.25. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	42
5.26. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	43
5.27. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	44
5.28. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	45
5.29. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	46
5.30. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	47
5.31. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	48
5.32. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	49
5.33. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	50
5.34. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	51
5.35. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	52
5.36. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	53
5.37. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	54
5.38. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	55
5.39. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	56
5.40. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	57
5.41. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	58
5.42. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	59
5.43. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	60
5.44. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	61
5.45. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	62
5.46. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	63
5.47. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	64
5.48. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	65
5.49. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	66
5.50. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	67
5.51. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	68
5.52. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	69
5.53. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	70
5.54. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	71
5.55. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	72
5.56. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	73
5.57. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	74
5.58. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	75
5.59. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	76
5.60. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	77
5.61. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	78
5.62. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	79
5.63. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	80
5.64. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	81
5.65. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	82
5.66. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	83
5.67. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	84
5.68. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	85
5.69. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	86
5.70. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	87
5.71. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	88
5.72. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	89
5.73. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	90
5.74. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	91
5.75. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	92
5.76. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	93
5.77. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	94
5.78. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	95
5.79. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	96
5.80. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	97
5.81. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	98
5.82. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	99
5.83. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	100
5.84. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	101
5.85. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	102
5.86. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	103
5.87. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	104
5.88. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	105
5.89. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	106
5.90. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	107
5.91. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	108
5.92. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	109
5.93. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	110
5.94. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	111
5.95. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	112
5.96. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	113
5.97. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	114
5.98. Zusammenfassung der Ergebnisse des Abschlusses	115
5.99. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dokumentation	116
5.100. Zusammenfassung der Ergebnisse der Berichterstattung	117

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. SCHRIFTTUM	2
2.1. Immunität bei persistierenden Virusinfektionen des zentralen Nervensystems	2
2.1.1. Visna-Maedi	3
2.1.2. Lymphocytäre Choriomeningitis	4
2.1.3. Tollwut	6
2.1.4. Staupe	7
2.1.5. Infektion mit dem Rhinopneumonitis-Virus (EHV ₁)	8
2.1.6. Infektion mit dem Herpes simplex-Virus	9
2.1.7. Subakute sklerosierende Panencephalitis	11
2.1.8. Progressive multifokale Leukoencephalopathie	12
2.1.9. Multiple Sklerose	13
2.1.10. Bornasche Krankheit	15
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	17
3.1. Material und Methoden	17
3.1.1. Virusmaterial	17
3.1.2. Versuchstiere	17
3.1.3. Pferdeseren	17
3.1.4. Zellkulturen	18
3.1.5. Direkte Immunofluoreszenz	18
3.1.5.1. Immunseren	18
3.1.5.2. Konjugatherstellung	18
3.1.5.3. Fluoreszenzserologische Auswertung	19
3.1.6. Virustitration	19
3.1.7. Komplementbindungsreaktion	20
3.1.8. Immunodiffusionstest	20
3.1.9. Neutralisationstest	21
3.1.10. Indirekter Immunofluoreszenztest	21
3.1.11. Haemagglutinationstest	22
3.1.12. Haemadsorptionstest	22

	Seite
3.2. Versuche und Ergebnisse	22
3.2.1. Vergleichende Untersuchungen über die Eignung verschiedener Methoden zum Nachweis von Serum- antikörpern bei einer Bornainfektion	22
3.2.1.1. Bisher übliche Methoden	23
3.2.1.2. Bisher nicht getestete Verfahren	24
3.2.1.2.1. Vorversuche zum Haemagglutinationshemmungstest	24
3.2.1.2.2. Vorversuche zum Haemadsorptionshemmungstest	28
3.2.1.2.3. Neutralisationstest	28
3.2.2. Untersuchungen über den zeitlichen Ablauf der Antikörperbildung bei Borna-infizierten Kaninchen	30
3.2.3. Einsatz des indirekten Immunofluoreszenztestes zur serologischen Untersuchung geimpfter Pferde	47
4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	52
5. ZUSAMMENFASSUNG	58
Summary	59
6. LITERATURVERZEICHNIS	60
Lebenslauf	

1. EINLEITUNG

Der Nachweis von Antikörpern ist ein gutes Hilfsmittel zum Studium von Infektionen und ihren unterschiedlichen Verlaufsformen.

Antikörperuntersuchungen sind z.B. unentbehrlich bei epidemiologischen, pathogenetischen, diagnostischen und immunbiologischen Fragestellungen.

Der Antikörpernachweis ist jedoch bei den Infektionen erschwert, die durch sogenannte "slow viruses" hervorgerufen werden. Dies trifft auch für die Infektion mit dem Bornavirus zu, das zu transienten oder persistierenden Infektionen des ZNS führt (MAYR und DANNER, 1974b). Serologische Untersuchungen waren bisher ausschließlich mit der Komplementbindungsreaktion durchgeführt worden und hatten zu unregelmäßigen Ergebnissen geführt.

Aufgabe vorliegender Arbeit ist es, nach anderen, möglicherweise sensibleren Methoden zum Antikörpernachweis zu suchen und mit ihrer Hilfe das Auftreten von Bornavirusantikörpern im infizierten Tier zeitlich und quantitativ zu studieren. Zudem soll dadurch die Kenntnis über das Vorkommen von Bornainfektionen erweitert werden.

2. SCHRIFTTUM

2.1. Immunität bei persistierenden Virusinfektionen des ZNS

Persistierende Virusinfektionen des Zentralnervensystems werden durch Erreger hervorgerufen, die den verschiedensten Gruppen konventioneller Viren angehören bzw. als nicht konventionell bezeichnet werden. Entsprechend unterscheiden sich auch die Verlaufsformen:

Neben chronischen und langsam progredienten Erkrankungen kommen tolerierte und als Zwischenform latente Infektionen vor (MAYR und DANNER, 1974). Bei einigen Erregern sind abhängig von der Wirtsspezies, vom Alter bei der Infizierung sowie vom Immunitätsstatus mehrere Infektionsformen möglich. Als Hauptbeispiel hierfür gilt in allgemeinen die Lymphocytäre Choriomeningitis (LCM), aber auch die Infektion mit dem Bornavirus muß hier angeführt werden (MAYR und DANNER, 1974b).

Die Vielfältigkeit der Virus-Wirts-Beziehung bei den persistierenden Virusinfektionen des ZNS bezieht sich auch auf die Immunantwort des Wirts. Lange Zeit hatte man gerade das Fehlen oder die schwache Ausbildung von Antikörpern als typisch für "langsame" und persistierende Virusinfektionen angesehen. Inzwischen hat man durch den Einsatz modernerer Methoden feststellen können, daß konventionelle Viren sehr wohl eine Antikörperbildung provozieren, wobei allerdings die neutralisierenden Antikörper im Hintergrund stehen. Dazu kommen zelluläre Immunmechanismen, die aber im einzelnen noch relativ wenig erfaßt werden konnten. Kompliziert wird das Bild dadurch, daß sich die Immunantwort zum Teil nicht nur gegen das Virusantigen richtet, sondern auch gegen wirtseigenes Material, z.B. Membranen von Gliazellen, was entscheidenden Einfluß auf die Pathogenese der betreffenden Infektion hat.

Am besten sind bisher die Serumantikörper untersucht worden. Nach diesem Kriterium können die persistierenden Virusinfektionen des ZNS in folgende Kategorien aufgeteilt werden:

- 1.) Infektionen, die zur "normalen" und gut erfaßbaren Bildung von humoralen Antikörpern führen, z.B. Staupe, Tollwut.
- 2.) Infektionen, bei deren Antikörper mit niedrigen Titern gleichbleibend oder schwankend vorliegen, und zwar unabhängig vom aktuellen Infektionsgeschehen (Herpes simplex-Virus).
- 3.) Tolerierte Infektionen ohne Bildung humoraler Antikörper (kongenitale LCM, Bornainfektion in infantilen Ratten und in Hamstern).
- 4.) Infektionen mit unkonventionellen Erregern wie Scrapie oder Kuru, bei denen keine Antikörper gebildet werden.

Darüberhinaus muß noch die Multiple Sklerose genannt werden, bei der bisher kein primär ursächlicher Erreger feststeht. Vorläufig wird versucht, über den Nachweis von besonders hohen oder ansteigenden Antikörpertitern gegen bekannte Virusarten ätiologische Beziehungen aufzustellen.

Im folgenden wird das Antikörperbild bei den wichtigsten der durch konventionelle Virusarten hervorgerufenen persistierenden Infektionen des ZNS beschrieben.

2.1.1. Visna-Maedi

Visna und Maedi sind zwei histopathologisch und klinisch unterschiedliche Formen einer durch die gleiche Virusart hervorgerufenen Infektionskrankheit beim Schaf. Beide Erkrankungen führen regelmäßig zum Tode. Visna ist eine sehr langsam verlaufende, mit Demyelinisierung einhergehende, wenig kontagiöse, progressive Infektionskrankheit, die mit zentralnervösen Symptomen verläuft und zu Paralysen führt. Bei Maedi handelt es sich um eine chronische, progressive Pneumonie.

Die Untersuchung der beiden Krankheitskomplexe führte SIGURDSSON (1954) zu seinem Konzept der sogenannten "Slow Virus Diseases". Bei beiden Erkrankungen persistiert das Virus im infizierten Tier bis zum Tod und veranlaßt sowohl in der Inkubationszeit als auch in der Krankheitsphase eine humorale Immunantwort, die mit Hilfe des Immunodiffusionstests (ID), der Komplementbindungsreaktion (KBR), des indirekten Immunofluoreszenztests (IIFT), der passiven Hämagglutination und des Neutralisationstests (NT) nachgewiesen werden kann.

Nach experimenteller Infektion lassen sich bereits ab der zweiten Woche sowohl mit dem IDals auch mit dem IIFT erste Antikörper nachweisen. Ihr Titer steigt einige Monate an, um dann im Laufe der Zeit wieder abzunehmen. Die maximale Titerhöhe liegt bei dem IIFT bei 1:1280 (TERPSTRA und De BOER, 1973; De BOER, 1975). Komplementbindende Antikörper treten dagegen erst ab der 3.-8. Woche auf und erreichen Titer bis 1:512. Sie bleiben mit abnehmender Tendenz ebenfalls über Jahre erhalten (GUDNADOTTIR und KRISTINSDOTTIR, 1967; TERPSTRA und De BOER, 1973; De BOER, 1975). Noch später im Verlauf der Infektion (1 1/2 bis 3 Monate p.inf) lassen sich neutralisierende Antikörper feststellen (GUDNADOTTIR und PALSSON, 1967; TERPSTRA und De BOER, 1973), die in geringen Mengen auch im Liquor cerebrospinalis nachzuweisen sind (GUDNADOTTIR, 1974).

Die Neutralisation gelingt mit dem Ausgangsvirus im späteren Verlauf nicht mehr in dem Maß wie zu Beginn der Infektion, so daß GUDNADOTTIR (1974) zu dem Schluß kam, daß das Virus im Organismus einen "antigenic drift" durchmacht, der sich aber mit der KBR nicht erfassen läßt. Bei hyperimmunisierten Kaninchen traten neutralisierende Antikörper nicht auf (KARL und THORMAR, 1971). Bei Schafen und hyperimmunisierten Kaninchen lassen sich Visnaantikörper mit Hilfe einer passiven Hämagglutination nachweisen, die empfindlicher ist als KBR und IIFT (KARL und THORMAR, 1971).

Ein Immunschutz scheint während der Infektion nicht ausgebildet zu werden, da die Infektion trotz Vorhandensein von Antikörpern immer letal endet. Über eventuelle zelluläre Immunmechanismen ist nichts bekannt.

2.1.2. Lymphocytäre Choriomeningitis (LCM)

LCM ist eine Seuche bei Wild- und Laboratoriumsmäusen, deren Verlauf vom Infektionsalter abhängt. Kongenital infizierte Mäuse entwickeln eine in der Regel lebenslange immunologische Toleranz, im späteren Leben infizierte Mäuse erkranken akut mit zentralnervösen Symptomen. Infektionen beim Menschen verlaufen in Form einer akuten Erkrankung mit einer Vielzahl von Symptomen, während bei Hamstern gewöhnlich klinisch inapparente Erkrankungen auftreten.

Für die Medizin ist die LCM als Zoonose und als Studienobjekt für immunologische Toleranz und persistierende Virusinfektionen von Interesse. Persistierende Infektionen kommen bei kongenital und experimentell neonatal infizierten Mäusen vor. Außerdem läßt sich Viruspersistenz durch immunsuppressive Maßnahmen erzielen (HOTCHIN, 1962; 1971 a und b; LEHMANN-GRUBE, 1971; COLE und NATHANSON, 1974), aber auch durch intracerebrale Verabreichung sehr hoher Dosen eines viscerotropen LCM-Virus (BENSON und HOTCHIN, 1969). Hierbei soll es zu einer Hemmung der zellulären Immunantwort durch die hohe Virusmenge ("High Dose Immune Paralysis-HDIP") kommen.

Antikörper gegen LCM lassen sich mit Hilfe von IIFT, NT und KBR nachweisen. Das trifft vor allem für die akute Erkrankung des Menschen und der adulten Mäuse sowie die klinisch-inapparente Infektion der Hamster zu (COHEN et al., 1966; JAWETZ et al., 1968; HOTCHIN et al., 1969; REHMAN, 1972), während serologische Untersuchungen bei kongenital infizierten Mäusen in der Vergangenheit immer negativ verlaufen sind. Auch Hyperimmunisierungen waren ohne Erfolg (TRAUB, 1960 a und b). Andererseits wiesen OLDSTONE und DIXON (1967) und BENSON und HOTCHIN (1969) mit Hilfe des IIFT bei perinatal infizierten Mäusen etwa ab dem 63. Tag p.p. Antikörper mit Titern von 1:8, nach 12 Monaten bis 1:16 nach. OLDSTONE und DIXON (1969 und 1971) konnten des weiteren zeigen, daß etwa nach 10-14 Monaten p.p. eine Glomerulonephritis auftritt, die durch Ablagerung von Antigen-Antikörper-Komplexen zustande kommt. Inwieweit diese Befunde die Vorstellung von der immunologischen Toleranz erschüttern, muß dahingestellt bleiben, bis in exakten und standardisierten Untersuchungen geprüft worden ist, ob die betreffenden Antikörper LCM-spezifisch sind oder durch neu entstandene, körpereigene Antigene hervorgerufen werden (TRAUB 1975; VOLKERT et al., 1975). HDIP-Mäuse bilden neben einer 6-12 Monate anhaltenden Virämie humorale Antikörper aus, die sich ab dem 6. Tag mit Hilfe des IIFT nachweisen lassen. Die Antikörpertiter steigen bis 1:128 (am 10. Tag) und nehmen über Monate langsam ab (BENSON und HOTCHIN, 1969).

Bei den immunsuppressiv behandelten, LCM-infizierten Mäusen ist keine Immunantwort festzustellen. Sie sind klinisch gesunde Virusträger, die allerdings nach immunologischer Rekonstitution, z.B. Übertragung von

Milzzellen immuner Tiere, akut erkranken. Dieses Phänomen zeigt die Bedeutung der zellulären Immunität bei der Pathogenese der akuten LCM-Erkrankung (GILDEN et al., 1972; COLE et al., 1972).

2.1.3. Tollwut

Tollwut ist eine akute, in der Regel tödlich verlaufende, virusbedingte Infektionskrankheit, die vorwiegend Säugetiere und den Menschen befällt, durch Biß übertragen wird und durch eine lange, bis zu 200 Tagen dauernde Inkubationszeit und zentralnervöse Störungen gekennzeichnet ist.

Als serologische Untersuchungsmethoden lassen sich der Neutralisationstest und nach neueren Befunden der empfindlichere indirekte Immunofluoreszenztest anwenden (ISHIZUKA et al., 1974; FITZGERALD et al., 1975). Daneben dienen auch die Komplementbindungsreaktion, der Immuncytolysis-, Immundiffusions-, Hämagglutinationshemmungs- und der Radioimmuntest zum Antikörpernachweis (LENETTE und EMMONS, 1971; GOUGH und DIERKS, 1971; WIKTOR, 1973). Über den Verlauf der Antikörperbildung bei natürlichen Infektionen ist wenig bekannt. WIKTOR (1970) berichtet von einem Fall beim Menschen, bei dem neutralisierende Antikörper mit Titern von 1:10 am 24. Tag p.inf. auf 1:12000 am 151. Tag stiegen. Der IIFT war bis zu Titern von 1:16384 positiv. Bei experimentell mit verschiedenen Virusmaterialien i.c. und s.c. infizierten Mäusen konnten neutralisierende Antikörper ab dem 6.-8. Tag p.inf., komplementbindende ab dem 10. Tag nachgewiesen werden (NOMURA, 1971; HILL, 1975). Bei tollwutinfizierten Hühnern traten ab dem 20.-25. Tag neutralisierende Antikörper auf (SCHNEIDER und BURTSCHER, 1967). Gegenstand serologischer Untersuchungen sind in der Hauptsache geimpfte Tiere, wobei nach der Beziehung zwischen Antikörpern und effektivem Infektionsschutz gefragt ist. So werden bei geimpften Hunden, Rindern und Pferden erste neutralisierende Antikörper ab der ersten bis zweiten Woche p.vacc. nachgewiesen; die Titer steigen in den ersten Wochen, um dann langsam über Monate wieder abzufallen (BARTH et al., 1971; JAEGER et al., 1973; KILCHSPERGER et al., 1973; BARTH et al., 1974; ARNOLD und SALVATIERRA, 1974). Ähnliche Verhältnisse liegen auch bei oral immunisierten Füchsen vor (MAYR et al., 1972; DEBBIE, 1974; WINKLER und BAER, 1976).

Neutralisierende Antikörper wurden nicht nur im Serum, sondern auch im ZNS Tollwut-infizierter Hunde gefunden, und zwar sowohl im Liquor cerebrospinalis (BELL et al., 1972) als auch in Gehirnextrakten (BELL et al., 1966). Sie gehören der IgG-Fraktion der Immunglobuline an und sind identisch mit den Serumantikörpern (GOUGH et al., 1974). Auch bei Tollwut-infizierten Hühnern treten virusneutralisierende Substanzen im Gehirn auf (SCHNEIDER und BURTSCHER, 1967), die sich sogar noch vor den Serumantikörpern und in höheren Titern ab etwa 18.-20. Tag p. inf. nachweisen lassen.

2.1.4. Staupe

Staupe ist eine Virusallgemeinerkrankung der Hunde mit charakteristischen Symptomen an den Schleimhäuten des Respirations- und Digestionstraktes, wobei eine Erkrankung des zentralen Nervensystems parallel oder erst Wochen bis Monate später auftreten kann. Gelegentlich bildet sich ein Exanthem der Haut und eine Hyperkeratose der Ballen aus.

Hier interessieren die Fälle, in denen das Virus wegen verzögerter Antikörperproduktion die Neuronen, die Weiße Gehirnschubstanz und die Hypophyse erreichen kann und dort persistiert (APPEL, 1969, 1970, 1972). Es entwickelt sich eine mit Demyelinisierung einhergehende Enzephalitis, die allerdings erst nach Wochen zu klinischen Erscheinungen führt. Eine besonders extreme Spätform der Staupe ist möglicherweise die "Old dog encephalitis" (LINCOLN et al., 1973).

Die Antikörper haben bei der Staupe insofern eine besondere Bedeutung, als sie mit an der Pathogenese beteiligt sind. Der Antikörpernachweis kann mit der Komplementbindungsreaktion und dem Neutralisationstest geführt werden. Außerdem gelingt bei bestimmten Seren eine Hämagglutinationshemmung (HAH) gegenüber Tween-Äther-behandeltem Masernvirus (WATERSON et al., 1963).

Neutralisierende Antikörper treten bei Staupe verhältnismäßig früh auf. Sie erscheinen nach künstlicher Infektion per Aerosol-Inhalation bereits ab dem 8.-10. Tag p. inf. mit Titern um 1:100. Sie haben in 2-4 Wochen ihren Höhepunkt bei 1:3000 erreicht (ROCKBORN, 1958; APPEL, 1969) und nehmen im Laufe von 1-2 Jahren wieder ab (ROBSON et al., 1959; KEEBLE, 1962). Die Menge

neutralisierender Antikörper erlaubt Rückschlüsse auf den Status des Infektionsschutzes, der bei Antikörpertitern von über 1:100 vorhanden sein soll (GILLESPIE et al., 1958; APPEL, 1969). Dieser Wert kann auch zur Beurteilung von Vakzinen herangezogen werden, mit Ausnahme solcher Impfstoffe, die inaktiviertes Staupevirus oder aber Masernvirus enthalten. Die Schutzwirkung des letzteren soll auf zellulären Immunmechanismen beruhen (BROWN und McCARTHY, 1974). Beide haben keine oder nur geringe Antikörperbildung zur Folge (GILLESPIE, 1965).

Komplementbindende Antikörper werden nur vorübergehend ab der 3.-4. Woche gebildet und stellen damit eine gute Diagnosemöglichkeit für frisch durchgemachte Infektionen dar (KARZON et al., 1961).

Weniger hinsichtlich einer Routinediagnose als bezüglich der Pathogenese interessieren bei der Staupe die cytotoxischen Antikörper, die mit Hilfe infizierter Gehirnzellkulturen - unter Zugabe von Komplement - nachgewiesen werden können. Aller Wahrscheinlichkeit nach sind diese Antikörper verantwortlich für die Demyelinisierung, das Hauptcharakteristikum der Staupe-encephalitis (JOHNSON und STORTS, 1972; KRAKOWKA et al., 1973; KOESTNER et al., 1974; KRAKOWKA, 1975). Entsprechend lassen sich auch Befunde von LINCOLN et al. (1973) diskutieren, die bei der "Old dog encephalitis" IgG verstärkt im Plasma von Gliazellen und Neuronen fanden, also Zellen, die Staupevirus vermehren. Bei Hunden mit zentralnervöser Staupe werden neutralisierende Antikörper nicht nur im Serum, sondern auch im Liquor cerebrospinalis gefunden (APPEL, 1969, 1970; CUTLER und AVERILL, 1969).

Möglicherweise sind an der Pathogenese neben humoralen auch zelluläre Immunmechanismen beteiligt. Entsprechende Hinweise fanden KOESTNER et al. (1974) in der spezifischen Adsorption von Lymphozyten Staupe-infizierter Hunde an Staupe-infizierte Gliazellkulturen. Weitere Beobachtungen stehen noch aus.

2.1.5. Infektion mit dem Rhinopneumonitis-Virus (EHV₁)

EHV₁ ruft beim Pferd eine hochkontagiöse, akute und meist fieberhafte Erkrankung hervor, die sich vorwiegend beim Fohlen als milde katarrhalische Entzündung des oberen Respirationstraktes äußert und bei trächtigen Stuten

in der Regel zwischen dem 7. und 10. Trächtigkeitsmonat zu Aborten führt. Gelegentlich ist die Infektion bei älteren Pferden mit zentralnervösen Erscheinungen assoziiert. Die Symptome variieren von milder Ataxie bis zu hochgradiger Paralyse. Aus dem ZNS solcher Pferde konnte EHV₁ isoliert werden (THORSEN und LITTLE 1975; CHARLTON et al., 1976; LITTLE und THORSEN, 1976). Es ist nicht bekannt, ob und wie lange das Virus im ZNS der Pferde persistiert. Die zentralnervöse Erkrankung wird derzeit auf pathologische Immunmechanismen nach Reinfektion oder rekurrerender Infektion zurückgeführt (JACKSON und KENDRICK, 1971; DINTER und KLINGEBORN, 1976).

Serologische Nachweismethoden für die Infektion mit dem EHV₁ sind generell KBR und NT. Komplementbindende Antikörper treten bei Erstinfektion nur kurzfristig ab 10.-14. Tag auf und sind nach 2-5 Monaten wieder verschwunden. Neutralisierende Antikörper sind ab dem 7.-10. Tag p.inf. nachweisbar, erreichen in 3-5 Wochen ihren Höhepunkt, persistieren dort über 5 Monate und nehmen dann langsam ab (DOLL und BRYANS, 1962). Da bei uns EHV₁ endemisch gehäuft vorkommt, sind 68% unserer Pferdepopulation serologisch positiv (BACHMANN et al., 1972). Bei Zweitinfektion ist im allgemeinen kein Antikörperanstieg zu verzeichnen (PETZOLD, 1974), insofern ist der diagnostische Wert der Antikörperuntersuchung bezüglich Enzephalitis begrenzt. Allerdings gelang es DINTER und KLINGEBORN (1976), bei einem Pareseausbruch durch EHV₁ ein Ansteigen der komplementbindenden und neutralisierenden Antikörper festzustellen. Bei der Rhinopneumonitis spielt nicht nur die humorale Immunität eine Rolle, sondern auch die zelluläre (PETZOLD, 1974). Es ist nicht untersucht worden, inwieweit dies auch auf die durch EHV₁ hervorgerufene zentralnervöse Krankheitsform zutrifft.

2.1.6. Infektion mit dem Herpes simplex-Virus

Herpes simplex-Virus kommt in zwei Serotypen, HSV-1 und HSV-2, vor die sich in ihrem biologischen und epidemiologischen Verhalten unterscheiden (NAHMJAS und DOWDLE, 1968). Mit HSV-1 infiziert sich der Mensch während seiner ersten fünf Lebensjahre. Diese Initialinfektion verläuft klinisch meist inapparent. Später kann es zur rekurrerenden Erkrankung kommen, deren

klinisches Bild durch Bläschen und Ulcera in Mund- und Gaumenbereich gekennzeichnet ist. Gelegentlich werden Allgemeinerkrankungen beobachtet. Das Virus persistiert vermutlich in den Ganglienzellen oder in Tränen- und Speicheldrüsen (RAWLS, 1973).

Das HSV-2 ist im allgemeinen die Ursache für den Herpes genitalis. Zur Ansteckung kommt es meist erst nach der Pubertät, unter Umständen auch bereits bei der Geburt bei der Passage durch den infizierten Geburtsweg mit für den Säugling häufig tödlicher Erkrankung.

Sowohl durch HSV-1 als auch nach neueren Untersuchungen durch HSV-2 (CRAIG und NAHMIAS, 1973; STADLER et al., 1973) können Encephalitiden hervorgerufen werden. HSV-1 ist häufig Ursache der sporadisch auftretenden Encephalitis der Erwachsenen (MILLER und ROSS, 1968), die oft innerhalb von 3-4 Wochen zum Tode führt. Zumindest bei einem Teil der Patienten läßt sich in der Anamnese eine Erkrankung an Herpes labialis finden, so daß man auf rekurrende Infektion schließen kann (LEIDER et al., 1965).

Eine Viruspersistenz in den Spinalganglien wurde sowohl beim Menschen (BASTIAN et al., 1972; BARINGER und SMOVELAND 1973; BARINGER, 1974), als auch beim Versuchstier (PLUMMER, 1973; BARINGER und SMOVELAND, 1974; Mc KENDALL et al., 1974; SCRIBA, 1976) nachgewiesen. Neuerdings gelang der Virusnachweis im Liquor cerebrospinalis HSV-infizierter Kaninchen (GRUMBACH et al., 1977).

Zum serologischen Nachweis der HSV-Infektion haben sich der Neutralisationstest (TOKUMARU und SCOTT, 1964) und die Komplementbindungsreaktion (ROSS et al., 1964) bewährt. Für die Diagnose ist von Bedeutung, daß ein Antikörperanstieg meist nur bei der Primärinfektion auftritt. Später entwickelt sich durch die dauernde Auseinandersetzung mit dem Erreger ein gleichbleibender Antikörperspiegel (BUDDINGH et al., 1953; SCOTT, 1957; KAPLAN, 1969; DOUGLAS und COUCH, 1970; RAWLS, 1973).

Bei HSV-Encephalitis-Patienten fanden LERNER et al. (1970) einen Anstieg komplementabhängiger neutralisierender Antikörper im Serum, wohingegen serologische Untersuchungen anderer Autoren negativ geblieben waren (HEINEMAN, 1967). Nach Untersuchungen von MacCALLUM et al. (1974) scheinen bei Patienten mit einer Herpesencephalitis neutralisierende und komple-

mentbindende Antikörper im Liquor cerebrospinalis aufzutreten. Sie finden sich gewöhnlich nach 2-3 Wochen und persistieren für 6-18 Monate. In neueren Untersuchungen konnten RUSSELL und SAERTRE (1976) auch bei Patienten mit (und bei einigen auch ohne klinisch manifesten) Herpes labialis Antikörper im Liquor cerebrospinalis nachweisen.

Eine gewisse Schutzwirkung besitzt neben der humoralen auch die zelluläre Immunität im Verlaufe einer HSV-Infektion, so daß es bei Defekten im zellulären Immunsystem zu schweren Erkrankungen kommen kann (RAWLS, 1973).

2.1.7. Subakute sclerosierende Panencephalitis (SSPE)

SSPE ist eine entzündliche, langsam fortschreitende Erkrankung des zentralen Nervensystems bei Kindern und Jugendlichen. Sie kommt verhältnismäßig selten vor und ist durch monate- bis jahrelange Krankheitsdauer mit tödlichem Ausgang gekennzeichnet. Das Virus kann trotz starker Ähnlichkeit mit dem Masernvirus in einigen biologischen Tests von diesem differenziert werden. Durch serologische Untersuchungsmethoden werden jedoch die gleichen Antikörper nachgewiesen wie bei einer akuten Masernerkrankung, mit der Besonderheit, daß bei SSPE-Patienten die Titer höher sind.

Als Nachweismethode werden die Komplementbindungsreaktion, der Neutralisationstest, der indirekte Immunofluoreszenztest und der Hämagglutinationshemmungstest angewendet, wobei der IIFT am empfindlichsten ist (CONNOLLY et al., 1967; SEVER und ZEMAN, 1968; ter MEULEN et al., 1968 und 1969), gefolgt von NT, HAH und KBR (ADELS et al., 1968). Außerdem lassen sich an SSPE-Gehirnzellkulturen cytolytische Antikörper nachweisen (OLDSTONE et al., 1975). Der Antikörpernachweis gelingt zu jedem Zeitpunkt der klinischen Erkrankung.

Die Antikörper im Serum von Masernpatienten und SSPE-Kranken unterscheiden sich lediglich durch ihr Verhalten in dem IIFT. Unabhängig vom Zeitpunkt der Untersuchung findet man bei SSPE-Seren immer Kern- und Plasmafluoreszenz (KATZ et al., 1970). Bei Masern-Kranken fällt auf, daß dies nur in der akuten Krankheitsphase der Fall ist. Später (nach etwa 4 Monaten) reagieren die Antikörper nur mit dem im Cytoplasma liegenden Antigen.

Mit den oben genannten serologischen Methoden lassen sich bei SSPE-Patienten Antikörper auch im Liquor cerebrospinalis (CONNOLLY et al., 1967; SEVER und ZEMAN, 1968; terMEULEN et al., 1968) und in gleicher Quantität in Gehirnextrakten darstellen (terMEULEN et al., 1972a). Der IgG-Gehalt des Gehirns ist bei SSPE im Vergleich zu Normalgehirnen um das 10-40 fache erhöht (VANDVIK, 1973).

Als Ursprung der Antikörper im ZNS wird lokale Bildung angenommen. Hierfür sprechen die biochemischen Untersuchungen von TOURTELLOTTE et al. (1968) und die radioimmunologischen von CUTLER et al. (1968), die zu dem Schluß kamen, daß etwa 95% des IgG im Gehirn im ZNS gebildet wird. Außerdem ließ sich fluoreszenzserologisch IgG in Plasmazellen und Lymphozyten des Gehirns nachweisen, und es konnten Antigen-Antikörper-Komplement-Komplexe zumindest bei Autopsiematerial in Nerven- und Gliazellen dargestellt werden (terMEULEN et al., 1969; VANDVIK, 1970).

Wie bei Masern ist auch bei der SSPE der größte Teil der humoralen Antikörper gegen das Virus-Nukleokapsid gerichtet (SALMI, et al., 1972). Darüberhinaus scheinen Antikörper aber auch mit verschiedenen anderen strukturellen Virusbestandteilen zu reagieren.

2.1.8. Progressive multifokale Leukoencephalopathie (PML)

PML ist eine seltene, bei Erwachsenen vorkommende, subakute, mit Demyelinierungserscheinungen einhergehende Erkrankung des Gehirns, die vor allem bei immunsuppressiv behandelten Patienten (ZURHEIN, 1969) oder als Komplikation einer vorhergehenden Veränderung des reticuloendothelialen Systems wie bei Hodgkin's Erkrankung oder Leukämie (RICHARDSON, 1961) beobachtet wird. Bei PML-Patienten sind zwei serologisch unterschiedliche Papovaviren isoliert worden und zwar ein nicht vom SV-40-Agens zu unterscheidender (WEINER et al., 1972) und ein als JC-Virus bezeichneter Erreger (PADGETT et al., 1971). Nach den bisher vorliegenden Untersuchungen kommt JC-Virus häufiger vor als SV-40 (NARAYAN et al., 1973; FUCILLO et al., 1974). Für den serologischen Nachweis eignet sich bei JC-Virusinfektionen die HAH, bei SV-40-Infektionen der NT. Obwohl WEINER und NARAYAN (1973) bei einem Fall von PML einen Anstieg von neutralisierenden Antikörpern gegen SV-40 nachwiesen, ist allgemein gesehen der serologische Befund für die Diagnose nur beschränkt aussagefähig. Einerseits hat sich ein Großteil der Patienten

bereits vor der Erkrankung mit dem Erreger auseinandergesetzt und Antikörper entwickelt. So ergaben serologische Reihenuntersuchungen, daß 69% der Erwachsenen in den USA hämagglutinationshemmende Antikörper gegen JC-Virus aufweisen und über 50% der Infektionen bereits vor dem Erreichen des 14. Lebensjahres erfolgte (PADGETT und WALKER, 1973). SV-40-Antikörper sind dagegen nur bei 2-6,5% der Bevölkerung in Indien und USA anzutreffen (SHAH, 1972). Wegen eines gemeinsamen Antigens von SV-40 und JC-Virus ist hierbei auch ein heterotypischer Antikörperanstieg möglich (NARAYAN et al., 1973). Andererseits ist ein erhöhter Antikörpertiter bei PML-Patienten nicht zu erwarten, da sie häufig unter der Einwirkung von Immunsuppressiva stehen oder aber an Krankheiten leiden, die die Immunantwort beeinträchtigen (NARAYAN et al., 1973; WALKER et al., 1974).

2.1.9. Multiple Sklerose (MS)

Multiple Sklerose ist eine chronische, mit Demyelinisierung einhergehende Erkrankung des zentralen Nervensystems, die meist im frühen Erwachsenenalter beginnt und chronisch progredient oder schubweise mit Neigung zu Remission verläuft. Die Ursache ist bis heute noch nicht bekannt.

Man nimmt jedoch an, daß bei ihrer Entstehung ein Virus beteiligt ist. Hierfür sprechen die Demyelinisierungserscheinungen als eines der Hauptcharakteristika, der intermittierende Verlauf, die lange Inkubationszeit und die epidemiologische Situation. Inzwischen sind verschiedene Virusarten als "Erreger" der MS in Verdacht gekommen, darunter Mumps-, Masern-, Vaccinia- und Herpes simplex-Virus (BROWN et al., 1971; HAIRE, 1977). Aufgrund elektronenmikroskopischer Untersuchungen wurde die Beteiligung von Paramyxoviren diskutiert (siehe: TANAKA et al., 1975). Die Annahme findet sich in der Isolierung eines Parainfluenza 1-Virus (6/94) aus dem Gehirn von MS-Patienten bestätigt (terMeulen et al., 1972b). Daneben ist auch die Isolierung eines bisher nicht klassifizierten Virus (MSAA=MS-associated agent) durch CARP et al. (1972; 1974) gelungen.

Entsprechend sind bei MS-Patienten auch Antikörper gegen die oben genannten Virusarten gesucht worden. Aber es konnten gegenüber Mumps, Vaccinia, Herpes simplex und anderen keine auffälligen Befunde erhoben werden (BROWN et al., 1971; HAIRE, 1977). Bisher sind auch keine spezifisch erhöhten Werte gegenüber dem Isolat 6/94 gefunden worden (NEMO et al., 1974). Auf der Suche nach Antikörpern gegen das MSAA wurden sowohl bei MS-Patienten als auch deren Verwandten und Pflegepersonal wie auch in Serumproben aus Ostafrika, wo MS nicht bekannt ist, Antikörper nachgewiesen (HENLE et al., 1975). Die Bedeutung dieser Befunde wird noch diskutiert (HAIRE, 1977).

Statistisch herrscht Übereinstimmung darüber, daß MS-Kranke höhere Antikörpertiter gegen Masernvirus haben als Kontrollpersonen (ADAMS und IMAGAWA, 1962; SALMI, 1973; NORBY et al., 1974; FRAZER 1977) und zwar um etwa das 2 bis 2 1/2 fache (FRAZER, 1975). Dies ist für die Diagnose jedoch leider von geringer Bedeutung, da die Abweichung im Einzelfall zu klein ist und persönlichen Schwankungen unterliegt (JOHNSON und HERNDON, 1974; HAIRE, 1977). Bei einem Teil der MS-Patienten wird IgM gefunden, das spezifisch gegen ein Antigen auf der Oberfläche Maserninfizierter Zellen gerichtet ist (FRAZER, 1977).

Neben diesen Antikörpern gegen Viren ist auch nach Antikörpern gesucht worden, die gegen körpereigenes Gewebe gerichtet sind und für die Pathogenese verantwortlich gemacht werden könnten. Ihr Vorhandensein konnte aber noch nicht bewiesen werden (CASPARY, 1977).

Auffällig ist der IgG-Gehalt im ZNS MS-Kranker (TOURTELLOTTE und PARKER, 1967; LINK, 1972 und 1973; OLSSON und LINK, 1973). IgG wird hier lokal gebildet und ist häufig mit erhöhten Werten (über 15% des Gesamtproteins) im Liquor zu finden. Es handelt sich um oligoklonales IgG, das sich in 95% der MS-Fälle nachweisen läßt und somit ein wichtiges diagnostisches Merkmal darstellt (THOMPSON, 1977).

Eine Beteiligung zellulärer Immunmechanismen an der Pathogenese der MS läßt sich anhand von Funktionsänderungen der T- und B-Lymphozyten und ihrem veränderten Verteilungsmuster vermuten. Ein Beweis steht aber noch aus (KNIGHT, 1977; WISNIEWSKI, 1977).

2.1.10. Bornasche Krankheit

Die Bornasche Krankheit ist eine virusbedingte, nichteitrige Meningo-encephalomyelitis mit meist letalem Ausgang. Sie befällt hauptsächlich Pferde und Schafe. Charakteristische Symptome sind Veränderungen des Wesens, Erregungs- und Depressionszustände, Teilnahmslosigkeit, Zwangsbewegungen, Krämpfe und schließlich Paresen.

Eine Reaktion zwischen Bornavirus und Bornaantikörpern kann man generell mit Hilfe der KBR (v. SPROCKHOFF, 1954 a und b), des ID (LUDWIG et al., 1973), mit dem direkten Immunofluoreszenztest (WAGNER et al., 1968; SHADDUCK et al., 1970; DANNER und MAYR, 1973) sowie dem IIFT (LUDWIG und BECHT, 1975; DANNER, 1975b) nachweisen. Neutralisationstests sind seit langem versucht worden, aber nie eindeutig positiv ausgefallen (ZWICK et al., 1928; NICOLAU und GALLOWAY, 1928; NITZSCHKE, 1963).

Für die routinemäßige Untersuchung von Seren auf Bornaantikörper wurde bislang ausschließlich die KBR eingesetzt. Komplementbindende Antikörper werden bei experimentell infizierten Kaninchen regelmäßig festgestellt, und zwar treten sie nach OTTA (1957) bereits 7 Tage p.inf., nach SCHINNERER (1959) ab dem 20. Tag p.inf., nach v. SPROCKHOFF (1954b) und v. SPROCKHOFF et al. (1975) sogar noch später auf. Sie finden sich auch bei experimentell infizierten Meerschweinchen (NITSCHKE, 1957) sowie bei Ratten nach Infektion im Erwachsenenalter (NITSCHKE, 1963). Dagegen lassen sich komplementbindende Antikörper in infantil infizierten Ratten (NITSCHKE, 1963) ebensowenig nachweisen wie in infizierten adulten Hamstern (ANZIL et al., 1973), obwohl in beiden Fällen eine Virusvermehrung im Organismus stattfindet (tolerierte Infektion).

Für die Praxis, d.h. für den serologischen Nachweis der Bornainfektion bei Pferden und Schafen, hat die Untersuchung auf komplementbindende Antikörper jedoch geringere Bedeutung, da diese bei natürlicher Infektion nur selten und unregelmäßig gebildet werden (v. SPROCKHOFF, 1954b; OTTA, 1957; WAGNER, 1970). Dasselbe gilt auch für experimentell infizierte (FECHNER, 1955; OTTA, 1957) sowie für geimpfte Pferde (FECHNER, 1955; OTTA, 1957; WAGNER, 1970). Möglicherweise ist der IIFT in diesen Fällen von größerem

Nutzen als die KBR. Mit seiner Hilfe konnten Antikörper bei Borna-erkrankten und -verdächtigen Pferden und Schafen gefunden werden (METZLER et al., 1976; METZLER, 1977). Antikörper treten auch im Zentralnervensystem Borna-infizierter Tiere auf (DANNER, 1976). Es ist interessant, daß NICOLAU et al. (1929) bereits von "viruliciden" Antikörpern im Gehirn infizierter Tiere berichtet hatten. ZNS-Antikörper konnten bisher bei infizierten Kaninchen, Pferden und Schafen sowohl in Gehirnexttrakten als auch im Liquor cerebrospinalis gefunden werden und zwar am besten mit Hilfe des IIFT (Titer bis ca. 1:20000), während der ID und die KBR nur bedingt geeignet sind (DANNER, 1976). Die Herkunft der Bornaantikörper im zentralen Nervensystem sowie die Rolle innerhalb der Pathogenese sind noch nicht bekannt. Über zelluläre Immunmechanismen sind bisher keine Untersuchungen durchgeführt worden.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Virusmaterial

Zur Verwendung kam der vom Pferd isolierte Bornavirusstamm M 28 (MAYR und DANNER, 1972a), und zwar entweder als Material aus Gehirn infizierter Kaninchen oder als Zellkulturmaterial.

Gehirnmaterial wurde gewonnen durch mechanisches Homogenisieren (Ultraturrax) als 20%ige Suspension in TC 199-Medium (Fa. DIFCO), Beschallen über 30 Sekunden (Sonifier S 75 der Fa. BRANSON Instr. Inc.) und anschließendes 10-minütiges Zentrifugieren bei 2000 g. Verwendet wurde der Oberstand.

Zellkulturvirus wurde in CV₁-Zellen hergestellt. Die Virusextraktion nach 14 tägiger Inkubation bei 36°C erfolgte durch einmaliges Gefrier-Tauen (bei -70°C) der Zellen mit Erhaltungsmedium und anschließende Ultraschallbehandlung (30 Sek.). Verwendet wurde der Oberstand nach 10-minütigem Zentrifugieren bei 2000 g. Zum Teil wurde dieses Material im CsCl-Gradienten gereinigt (DANNER, 1975a).

3.1.2. Versuchstiere

Die verwendeten Kaninchen waren bei Infektion etwa 6 Wochen alt, wurden in Metallkäfigen gehalten und mit Pellets und Wasser ad libitum ernährt. Die intracerebrale und intranasale Infizierung erfolgte in leichter Äther- bzw. Rompun^(R)-Ketanest^(R)-Narkose.

3.1.3. Pferdeseren

Die Pferdeseren stammten von vakzinieren Tieren (Impfstoff des Fachbereichs Veterinärmedizin des Landesuntersuchungsamtes für das Gesundheitswesen Südbayern in Oberschleißheim), die im Staatsgestüt Achselschwang oder in Reitschulen und Gestüten der näheren Umgebung standen. Für die

Überlassung der Seren danke ich Herrn Dr. L. Geiger, Schwabmünchen; Herrn Dr. K.E. Jost, Lauf; Herrn Dr. P. Matzke, Grub; Herrn Dr. S. Rattenhuber, Diessen; Herrn Dr. H. Rettinger, Dachau, und Herrn Dr. H. Röcken, Starnberg.

3.1.4. Zellkulturen

Virustitration und Haemadsorptionstest wurden mit der RK₁₃-Zelllinie durchgeführt. Außerdem kamen bei dem Haemadsorptionstest permanent mit Bornavirus infizierte RK₁₃-Zellkulturen zur Anwendung (MAYR und DANNER, 1974b), die auch für die Durchführung des IIFT herangezogen wurden. Für alle RK₁₃-Zellkulturen wurde TC-199 Medium (Fa. DIFCO) mit 5% foetalem Kälberserum (FKS) verwendet.

Zur Virusgewinnung diente die CV₁-Zelllinie, die mit Earle's Minimal Essential Medium gezüchtet wurde. Dem Anzuchtmedium wurde 10%, dem Erhaltungsmedium 5% FKS zugegeben. Obengenannten Medien wurde regelmäßig 100 I.E. Penicillin /ml, 100 µg Streptomycin/ml und 1,5% Phenolrot (in 0,1%iger Lösung) zugesetzt.

3.1.5. Direkte Immunofluoreszenz

3.1.5.1. Immunseren

Die zur Konjugatherstellung verwendeten Immunseren stammten von Kaninchen, die einmal intracerebral bzw. mehrmals subkutan mit Bornavirus (Gehirn- oder Zellkulturmaterial) infiziert worden waren. Gut eigneten sich Seren, die in der KBR (MAYR und DANNER, 1972a) Antikörpertiter über 1:32 aufwiesen.

3.1.5.2. Konjugatherstellung

Die Konjugatherstellung folgte den Angaben von RESSANG und DEN BOER (1967). Aus den Immunseren wurden die Immunglobuline durch Fällung mit Ammoniumsulfat und anschließende Chromatographie an DEAE-Zellulose (SERVA, Heidelberg) gewonnen. Nach der Konjugierung mit Fluorescein-Isothiocyanat

(FITC, SERVA) erfolgte die Reinigung von überschüssigem FITC durch Gelfiltration mit Sephadex G-50 (PHARMACIA, Uppsala) mit anschließender Adsorption an acetoneextrahiertes Schweineleberpulver (SCHNEIDER, 1964) und hochtouriger Zentrifugation (30 Min. bei 20 000 g).

3.1.5.3. Fluoreszenzserologische Auswertung

Die in LEIGHTON-Röhrchen gezüchteten Deckgläschenkulturen wurden nach mehrmaliger gründlicher Spülung mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS, pH 7.4) 10 Min. bei Zimmertemperatur in Aceton p.a. fixiert, luftgetrocknet, nach kurzer Benetzung mit PBS mit Konjugat beschickt und 40 Min. in einer feuchten Kammer bei 37°C inkubiert. Nach zwei abschließenden Waschvorgängen in PBS von je 5 Min. Dauer erfolgte die Einbettung der Präparate in carbonatgepuffertem Glycerin (pH 7.8).

Zur Auswertung der Präparate stand ein LEITZ-Mikroskop "Ortholux" mit Auflichteinrichtung und der Quecksilberhöchstdrucklampe HBO 200 W als Strahlungsquelle zur Verfügung. Die Filterkombination (LEITZ) setzte sich aus dem Erregerfilter KP 500 in Verbindung mit 4 mm BG 38 zur Rotdämpfung und dem Sperrfilter K 510 zusammen.

Die mikroskopische Betrachtung der gefärbten Präparate erfolgte bei 400-facher optischer Vergrößerung. Die auftretende Fluoreszenz wurde in Anlehnung an die von DANNER und MAYR (1973) beschriebenen Charakteristika beurteilt.

3.1.6. Virustitration

Falls bei den Versuchen nicht anders angegeben, wurden die zur fluoreszenzoptischen Auswertung in LEIGHTON-Röhrchen gezüchteten Zellkulturen bei einer Dichte von mindestens 80% nach der Inokulationsmethode mit 0,2 ml Virusmaterial infiziert, über Nacht bei 36°C inkubiert, anschließend nach gründlicher PBS-Spülung mit frischem Medium beschickt und am 7. Tag nach der Infizierung (p.inf.) ausgewertet (MAYR und DANNER, 1974a; HEUBECK, 1976).

Ausgezählt wurde das Auftreten von "fluoreszierenden Zentren"; unter diesem Begriff wurden fluoreszierende Einzelzellen und Zellverbände zusammengefaßt. Die Angabe des Virusgehaltes in "Infektiösen Einheiten" (I.E.) geht davon aus, daß jedem fluoreszierenden Zentrum in der Zellkultur eine I.E. des Virusmaterials zuzuordnen ist.

Durchmustert wurde jeweils ein repräsentatives Zehntel der Präparatfläche (DANNER und BACHMANN, 1970).

3.1.7. Komplementbindungsreaktion (KBR)

Die Durchführung der KBR erfolgte als Mikromethode in Plexiglasplatten (Fa. COOKE ENGINEERING Co.) mit Vor- und Hauptversuch. Im Hauptversuch wurde Komplement (BEHRINGWERKE) in einer Konzentration gewählt, die 1,5% über dem im Vorversuch ermittelten Komplementverbrauch lag. Der Hauptversuch wurde als Kältebindung bei 4°C über 18 Stunden durchgeführt; je nach unbekannter Komponente erfolgte die Serum- oder Antigenverdünnung in Zweierpotenzen, wobei die Ausgangsverdünnung bei Seren 1:4 und bei Gehirnen 1:40 betrug. Als Standardantigen wurde Bornavirus -Gehirnmaterial, als Kontrollantigen ein Normalgehirn gleicher Aufbereitung verwendet. Die Arbeitsdosis des konstanten Reaktionspartners betrug das 4-fache seines KBR-Titers. Dieser ergab sich aus der letzten Verdünnungsstufe, in der die Haemolyse 100%ig gehemmt war. Das haemolytische System bestand aus einer 2%igen Hammelerythrozytensuspension und Ambozeptor, 1:4000 (BEHRINGWERKE). Der Puffer wurde nach MAYR et al. (1977) hergestellt.

3.1.8. Immunodiffusionstest (ID)

Der ID wurde als doppelte Immunodiffusion nach OUCHTERLONY (1948) auf Objektträgern durchgeführt (Mikromethode). Von einem 1,5%igen Agarose-Gel (SERVA, Heidelberg) mit Diäthylbarbiturat-Acetat-Puffer (12,92 g Barbitat-Barbitalnatrium + 8,83 g Natriumacetat in 1 l Aqua dest., pH 8.2, vor Gebrauch 1:3 mit Aqua dest. verdünnt) kamen etwa 5 ml auf einen Objektträger. Mit Hilfe eines Stanzstempels (Gel-Punch, Type 6808 A, LKB, Sweden) wurden in radiärer Anordnung mit 5 mm Abstand 6 periphere Depots (3 mm Durchmesser) um ein zentrales angebracht. Als Antigen wurde Gehirnmaterial verwendet. Die Negativkontrolle wurde mit Normal-

gehirn gleicher Zubereitung durchgeführt. Die Verdünnung der Seren erfolgte mit Puffer in Zweierpotenzen. Bis zum Ablesen lief die Reaktion bei Zimmertemperatur über 24 bzw. 48 Stunden.

3.1.9. Neutralisationstest (NT)

Der NT kam als Serumneutralisationstest mit konstanter Virusmenge und steigenden Serumverdünnungen (in Zweierpotenzen) zur Anwendung. Die Konzentration des Zellkulturvirus betrug etwa 10 000 I.E. pro ml. Die Seren wurden durch Filtration (Millex, 0,45 μ m, MILLIPORE S.A.) sterilisiert und 30 Min. bei 56°C inaktiviert. Nach Inkubation des Gemisches von Virus und Serumverdünnung zu gleichen Teilen bei 37°C für eine und bei 4°C für weitere zwei Stunden kamen pro Verdünnungsstufe 0,2 ml auf 2 Leighton-Tubes mit RK₁₃-Zellen. Nach fluoreszenzserologischer Auswertung der Zellkulturen wurden als letzte positive, neutralisierende Serumverdünnungen diejenige angenommen, die zu einer 90%igen Reduktion der I.E. im Vergleich zu den Viruskontrollen geführt hatte.

3.1.10. Indirekter Immunofluoreszenztest (IIFT)

Die Durchführung des IIFT erfolgte mit acetontfixierten, permanent mit Bornavirus infizierten RK₁₃-Zellkulturen (MAYR und DANNER, 1974b). Nach Benetzung mit PBS wurden die Deckgläschen mit den entsprechenden Serumverdünnungen (in Zweierpotenzen, 1:10 vorverdünnt) beschickt, 45 Minuten bei 20°C inkubiert, danach dreimal über 10 Minuten in PBS gewaschen und mit einem Anti-Kaninchen- bzw. Anti-Pferd-Konjugat gefärbt. Nach abschließendem zweimaligem Waschen mit PBS erfolgte die Einbettung der Präparate in carbonatgepuffertem Glycerin (pH 7.8). Um unspezifische Reaktionen auszuschließen, wurde der Test in der Serumausgangsverdünnung auch mit nicht infizierten Zellkulturen durchgeführt.

Das Anti-Kaninchen-Konjugat stammte von der Fa. MELOY, Springfield, Ill., USA; das Anti-Pferd-Konjugat ist selbst hergestellt worden: Aus einem Gemisch von Pferdeseren ist die Globulinfraktion, wie unter 3.1.5.2. beschrieben, gewonnen worden. Hiermit wurden Kaninchen dreimal im Abstand von 4 bzw. 2 Wochen intracutan, intramuskulär und intraperitoneal immunisiert. 10 Tage später wurden die Seren gewonnen und entsprechend 3.1.5.2. konjugiert.

3.1.11. Haemagglutinationstest (HA)

Der HA wurde als Makromethode in Röhrchen angesetzt. Als Virusmaterial diente Gradienten-gereinigtes Zellkulturvirus (Titer: $10^{4,7}$ I.E./ml). Das Virusmaterial wurde zum Teil einer Tween-Äther-Behandlung unterzogen (MAYR et al., 1977). Tween 80 (5% in PBS) wurde bis zur Endkonzentration von 0,025% zugegeben und bei 20°C 5 Minuten geschüttelt. Dann erfolgte die Zugabe von kaltem Äther im Verhältnis 1:2 und Schütteln bei 4°C über 30 Minuten. Anschließend wurde 20 Minuten bei 2000 g zentrifugiert, die wässrige Phase abgezogen und zur Entfernung des Restäthers Stickstoff darüber geleitet, bis der Äthergeruch verschwunden war. Die Erythrozyten stammten von Pferd, Rind, Hammel, Kaninchen, Meerschweinchen, Huhn und Mensch (0) und kamen als 0,5%ige Suspension zur Anwendung. Der Puffer wurde nach MAYR et al. (1977) hergestellt. Inkubiert wurde parallel 1/2 Stunde bei 37°C, 1 Stunde bei 20°C bzw. 1 Stunde bei 4°C.

3.1.12. Haemadsorptionstest

Die Haemadsorption wurde mit Zellkulturen in Röhrchen und Leighton-Tubes angesetzt. Zur Anwendung kamen sowohl permanent als auch frisch mit Bornavirus-Material (Titer: 5000-10 000 I.E./ml) infizierte RK₁₃-Zellen. Letztere wurden 1, 2 oder 3 Wochen p.inf. im Versuch eingesetzt. Die Erythrozyten stammten von Pferd, Rind, Hammel, Meerschweinchen und Huhn und wurden in 0,5%iger Suspension auf die Zellkultur gegeben. Die Inkubationszeit variierte zwischen 1-3 und 24 Stunden, die Temperatur lag bei 37°C oder 4°C. Als Puffer fand der HA-Puffer Verwendung.

3.2. Versuche und Ergebnisse

3.2.1. Vergleichende Untersuchungen über die Eignung verschiedener Methoden zum Nachweis von Serumantikörpern bei einer Bornainfektion

Seit den grundlegenden Arbeiten von v. SPROCKHOFF (1954b) ist es üblich, Serumantikörper bei einer Bornainfektion mit der KBR nachzuweisen. In den letzten Jahren sind darüberhinaus IIFT und ID zum Antikörpernachweis eingesetzt worden (LUDWIG et al., 1973; LUDWIG und BECHT, 1975; DANNER, 1975b). In der vorliegenden Arbeit sollte zunächst festgestellt werden, welche der genannten serologischen Methoden sich am besten für den Antikörpernachweis eignet, d.h. mit welcher Methode am häufigsten, am sichersten und am einfachsten Antikörper in Bornaseren festgestellt werden können. Hierzu standen Kaninchenseren aus früheren Versuchen zur Verfügung; zusätzlich wurden Seren des Versuches 3.2.3. berücksichtigt.

Darüberhinaus sollte untersucht werden, ob sich auch andere serologische Methoden zum Nachweis von Serumantikörpern bei einer Bornainfektion eignen. Dieser Versuch erstreckte sich auf die Haemagglutinationshemmung, Haemadsorptionshemmung und den Neutralisationstest. Bezüglich der ersteren war es zunächst nötig, nach entsprechenden haemagglutinierenden bzw. haemadsorbierenden Eigenschaften des Bornavirus zu suchen.

3.2.1.1. Bisher übliche Methoden

Die diesem Versuch zu Grunde liegenden Seren stammten alle von Kaninchen, die einmal mit Bornavirus infiziert worden waren. Die verschiedenen Infektionsmodi sind in Tabelle 1 angegeben. Zumeist handelt es sich um intracerebral oder subcutan infizierte Tiere. Die mit "S" bezeichneten Seren stammen vom Fachbereich Veterinärmedizin des Landesuntersuchungsamtes für das Gesundheitswesen Südbayern in Oberschleißheim. Für Ihre Überlassung sei Herrn Professor Dr. G. BECK herzlich gedankt.

Nach Vorversuchen konnte man annehmen (DANNER, mündl. Mitteilung), daß der IIFT Bornaantikörper am sichersten nachzuweisen vermag. Seren von Kaninchen, die nachweislich an einer Bornainfektion erkrankt waren, enthielten stets IIFT-Antikörper. Darüberhinaus waren keine Kaninchenseren gefunden worden, die in der KBR positiv und im IIFT negativ waren. Diese Beobachtung bestätigte sich auch in eigenen Versuchen. Daher basiert die vergleichende Untersuchung auf IIFT-positiven Seren.

Mit dem IIFT ließen sich bei den 81 untersuchten Seren Antikörpertiter zwischen 1:10 und 1:10240 nachweisen. 42 dieser Seren besaßen in der KBR Titer von 1:4 bis 1:128, 39 Seren waren negativ ($\leq 1:4$). Mittels Immunodiffusion ließen sich bei 26 Seren geringe Antikörpertiter bis zu einer Verdünnung von 1:8 feststellen. Die Ergebnisse sind im einzelnen in Tabelle 1 zusammengestellt. Die Abbildung 1 macht deutlich, daß bei einem großen Teil der Seren Antikörper nur im IIFT, aber nicht in KBR und ID nachzuweisen sind. Der Trend geht dahin, daß mit steigendem IIFT-Titer die Wahrscheinlichkeit zunimmt, Antikörper auch mittels KBR oder eventuell auch mit dem ID zu finden. Rein rechnerisch ist die Sensibilität des IIFT im Durchschnitt (gemessen am geometrischen Mittelwert der Titerwerte) mindestens 50-fach größer als die der KBR und mindestens 350-fach höher als die des ID. Die Kontrollen - bei KBR und ID Normalgehirn, bei IIFT nichtinfizierte RK₁₃-Zellkulturen - waren stets negativ.

3.2.1.2. Bisher nicht getestete Verfahren

3.2.1.2.1. Vorversuche zum Haemagglutinationshemmungstest (HAH)

Bisher war nicht bekannt, ob das Bornavirus hämagglutinierende Eigenschaften besitzt und im infizierten Organismus die Bildung entsprechender haemagglutinationshemmender Antikörper induzieren kann. Daher wurde zunächst geklärt, ob Bornavirus Erythrozyten verschiedener Spezies haemagglutinieren kann oder nicht. Als Antigen diente Gradienten-gereinigtes Zellkulturvirusmaterial, das unbehandelt verwendet oder zusätzlich einer Tween-Äther-Behandlung unterzogen wurde. Diese ruft bei einigen Virusarten - z.B. Paramyxoviren (JOHN und FULGINITI, 1966) - eine HAH-Titersteigerung hervor.

Mit beiden Antigen-Materialien (unbehandelt bzw. nach Tween-Äther-Behandlung) konnte weder mit Erythrozyten von Pferd, Rind, Hammel, Kaninchen, Meerschweinchen, Huhn noch solchen vom Menschen (Gruppe 0) eine HA festgestellt werden, so daß kein Versuch einer HAH unternommen wurde.

Tabelle 1 : Nachweis von Antikörpern im Serum Borna-infizierter Kaninchen
mit Hilfe von IIFT, KBR und ID

Serum Nr.	Infektionsart	IIFT	KBR	ID	Serum Nr.	Infektionsart	IIFT	KBR	ID
189	intracerebral	40*	< 4*	0*	120	intracerebral	640	16	1
191	"	320	< 4	0	123	"	640	8	1
193/2	"	20	< 4	0	124	"	80	8	1
193/3	"	2560	32	4	127	"	1280	32	4
192	"	640	< 4	0	128	"	2560	32	4
194/3	"	80	< 4	0	S 528	"	20	< 4	0
194/4	"	2560	8	1	S 532	"	20	< 4	0
195/3	"	640	4	0	S 560	"	160	8	0
195/4	"	10240	32	2	S 563	"	40	8	1
148/3	"	320	< 4	0	S 565	"	1280	16	2
148/4	"	5120	8	0	S 566	"	40	4	0
149	"	640	< 4	0	S 570	"	160	8	0
56/4	"	1280	< 4	0	S 572	"	640	16	1
56/5	"	2560	8	0	S 573	"	160	8	0
146/4	"	640	< 4	0	S 581	"	640	4	0
146/5	"	640	< 4	0	S 585	"	80	< 4	0
2	"	80	< 4	0	S 749	"	320	16	1
7	"	640	32	4	170	subcutan	10	< 4	0
113	"	640	8	0	97/4	"	320	< 4	0
115	"	40	8	1	97/5	"	640	8	1
116	"	640	16	1	95/3	"	40	< 4	0

* reziproker Wert der letzten positiven Serumverdünnung

Tabelle 1, Fortsetzung

Serum Nr.	Infektionsart	IIFT	KBR	ID	Serum Nr.	Infektionsart	IIFT	KBR	ID
95/4	subcutan	160	< 4	0	173/5	subcutan	20	4	0
95/5	"	160	< 4	0	173/6	"	320	4	0
95/6	"	320	< 4	0	173/7	"	320	4	0
16/3	"	160	4	0	173/8	"	2560	8	4
96/4	"	2560	16	1	174/3	"	20	< 4	0
96/5	"	1280	64	4	174/4	"	1280	< 4	0
96/6	"	10240	128	8	174/5	"	640	< 4	0
98/3	"	320	< 4	0	174/6	"	320	< 4	0
98/4	"	1280	4	0	174/7	"	1280	< 4	1
98/5	"	1280	4	1	174/8	"	1280	4	1
98/6	"	2560	32	8	184/4	intranasal	1280	< 4	0
171/3	"	20	< 4	0	184/5	"	10240	64	4
171/4	"	10	< 4	0	89/3	"	80	< 4	0
171/5	"	320	8	1	89/4	"	160	< 4	0
171/6	"	10240	16	2	89/5	"	160	< 4	0
169/3	"	20	< 4	0	89/6	"	640	< 4	0
169/5	"	160	8	0	92/4	"	320	< 4	0
169/5	"	320	4	0	92/5	"	320	< 4	0
164/7	"	320	< 4	0	92/6	"	640	< 4	0
169/8	"	640	< 4	0					

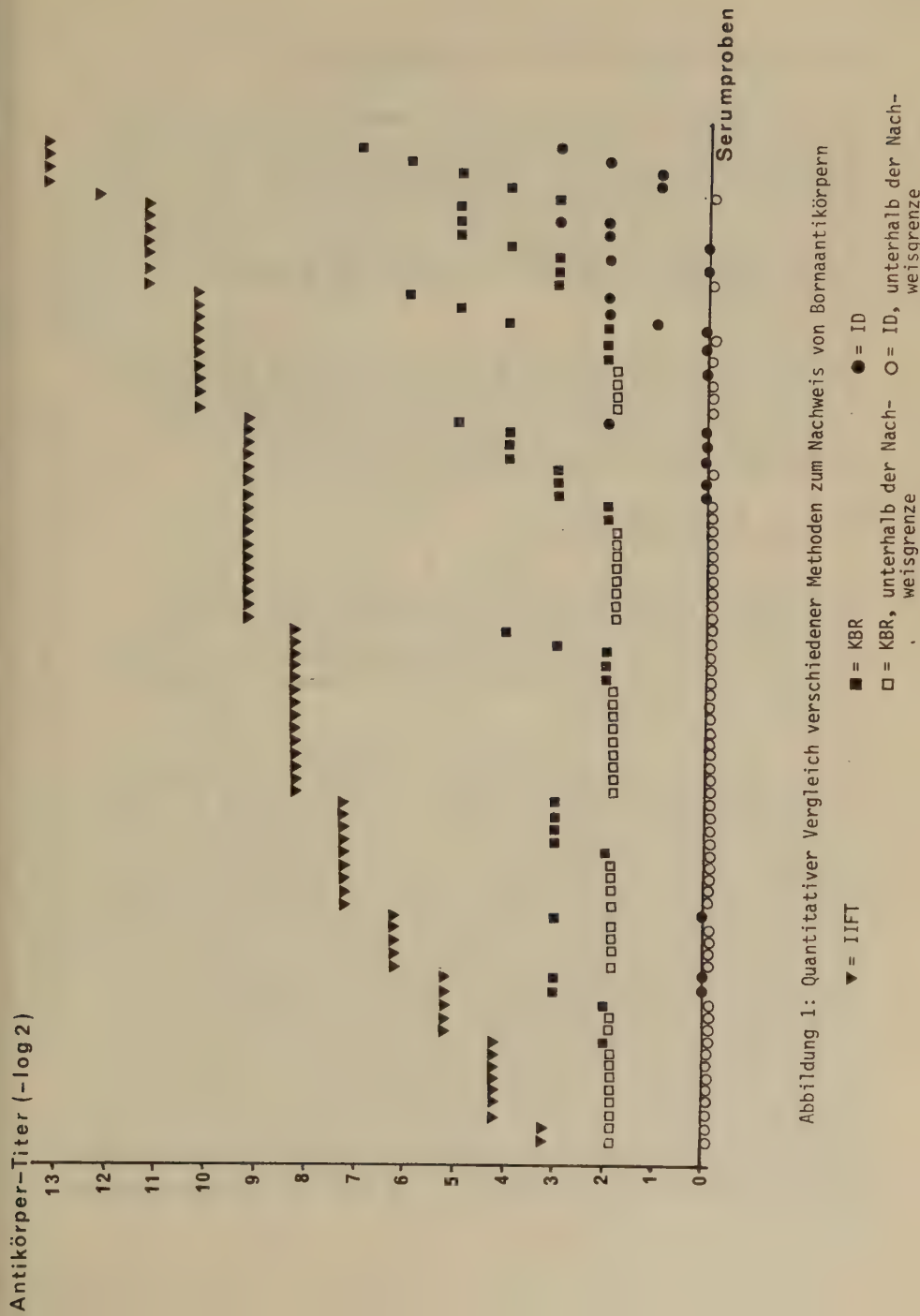


Abbildung 1: Quantitativer Vergleich verschiedener Methoden zum Nachweis von Bornaantikörpern

3.2.1.2.2. Vorversuche zum Haemadsorptionshemmungstest

Antikörper lassen sich auch mit Hilfe des Haemadsorptionshemmungstests in Zellkulturen nachweisen, wenn entsprechende Haemagglutinine an der Oberfläche virusinfizierter Zellen sitzen (VOGEL und SHELOKOV, 1957). Um zu untersuchen, ob Bornavirus-infizierte Zellen Erythrozyten adsorbieren können, wurde die Haemadsorption mit 5 Erythrozytenarten (Pferd, Rind, Hammel, Meerschweinchen und Huhn) bei verschiedenen Temperaturen und Inkubationszeiten versucht.

Mit obengenannten Erythrozyten ließ sich bei 37°C und 4°C und Inkubationszeiten bis zu 24 Stunden keine Haemadsorption in permanent und frisch infizierten RK₁₃-Zellkulturen nachweisen, so daß keine Grundlage für den Versuch einer Haemadsorptionshemmung gegeben war.

3.2.1.2.3. Neutralisationstest

Der Versuch, virusneutralisierende Antikörper nachzuweisen, wurde an Seren von Kaninchen unternommen, die einmal oder mehrmals mit Bornavirus infiziert worden waren und im IIFT hohe Antikörpertiter aufwiesen. Zum Vergleich (Negativkontrolle) wurden Seren von nicht infizierten, IIFT-negativen Tieren herangezogen.

Weil aus Vorversuchen bekannt war, daß Normalseren bei einer Verdünnung von 1:2 eine Plaquereduktion von 50-100% bewirken, wurden die Seren grundsätzlich 1:4 vorverdünnt. Das Ergebnis ist in Tabelle 2 festgehalten. Die Plaquereduktionsrate der Normalseren lag selbst in den Anfangsverdünnungen (1:4) weit unter 90%, im Durchschnitt bei 31%. Von 38 untersuchten Seren Borna-infizierter Kaninchen waren 11 positiv, d.h. sie hatten im Vergleich zu Viruskontrollen eine Hemmung von mindestens 90% hervorgerufen. Die entsprechenden Serumverdünnungen lagen zwischen 1:4 und 1:1024. Von diesen 11 Seren stammten 10 von Kaninchen, die mehrmals im Verlauf von 4-7 Monaten zur Hyperimmunisierung parenteral infiziert worden waren (Siehe Tabelle 3). Ein Kaninchen (Nr. 69) war zweimal s.c. infiziert und 8 Wochen nach Erstinfektion moribund getötet worden; Kaninchen, die nur einmal infiziert und maximal 8 Wochen p.inf. entblutet worden waren, wiesen keine neutralisierenden Serumantikörper auf, gleichgültig, ob sie spezifisch erkrankt waren oder nicht.

Tabelle 2 : Nachweis von neutralisierenden Antikörpern im Serum
Borna-infizierter Kaninchen

Kan.-Serum Nr.	Serumverdünnung 1:												
	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096	8192	16384
Norm.-S. 1	36*	17	9	16	8								
Norm.-S. 2	47	21	24	14	11								
Norm.-S. 3	-**	32	36	33	17	8							
Norm.-S. 4	30	-1	32	15	9								
Norm.-S. 5	17	-38	-38	5									
Norm.-S. 6	27	23	38	13									
1	100	99	99	86	82	75	44	25					
2	100	100	99	99	95	95	82	71	33	18			
5	100	100	99	78	66	63	48	22					
18	-	93	77	72	5	52	22						
19	-	100	100	83	73	70	54	28	17				
52	70	31	47	26									
53	91	90	79	48	32								
56	25	11											
59	-3	5											
65	61	64	33	16									
69	95	93	59	67	59	37	13						
83	100	100	100	100	100	100	100	100	91	88	71	64	27
89	0												
91	-	100	100	97	93	60	55	28	14				
92	25												
95	32												
96	93	75	47	48	43	25							
96a	27												
97	100	97	88	80	50	52	37	22					
97a	10												
98	47	28											
129	12	24	40	13									
138	32												
139	-	27	59	46	19								
146	50	33	11										
148	45	28	5										
168	30	30											
171	-1	-12											
194	11	83	27										
195	8	12											
196	-14	20	-2										
763	67	68	74	29	23								

* %Plaquereduktion

** nicht durchgeführt

Tabelle 3: Seren mehrmals Borna-infizierter Kaninchen mit
neutralisierenden Antikörpern

Kan. Nr.	NT-Titer 1:	IIFT-Titer 1:	Anzahl der Infektionen	Zeitraum zw. Erst- inf. und Blutentn.
1	16	5120	10	4 Monate
2	128	10240	10	4 "
5	16	20480	10	4 "
18	8	1280	9	5 "
19	16	2560	9	5 "
53	8	320	3	7 "
69	8	20480	2	2 "
83	1024	20480	10	6 "
91	64	2560	10	6 "
96	4	5120	10	4 "
97	8	5120	10	5 "

3.2.2. Untersuchungen über den zeitlichen Ablauf der Antikörperbildung bei Borna-infizierten Kaninchen

Um den zeitlichen Ablauf der Antikörperproduktion verfolgen zu können, wurden je 12 Kaninchen i.c. und i.n. mit 0,5 ml und 14 Kaninchen s.c. mit 1 ml Zellkulturmaterial infiziert. Der Virusgehalt betrug $10^{4,6}$ I.E./ml. Das Serum der infizierten Tiere wurde wöchentlich mit Hilfe von IIFT, KBR und ID auf Antikörper untersucht. Da nach DANNER (1976) Bornaantikörper auch im ZNS auftreten, wurden außerdem wöchentlich einzelne Tiere in Äthernarkose entblutet und ihr Gehirn und in unregelmäßigen Abständen auch der Liquor cerebrospinalis auf Antikörper untersucht, und zwar mittels IIFT, der hierfür die Methode der Wahl darstellt (DANNER, 1976). Um gleichzeitig eine Beziehung zwischen der Immunreaktion und den pathogenetischen Vorgängen herzustellen, wurden die Gehirne der getöteten Tiere auf ihren Gehalt an infektiösem Virus bzw. Virusantigen untersucht.

Bei den drei Versuchsreihen (intranasale, intracerebrale und subcutane Inokulation) bestanden grundsätzliche Unterschiede über den Infektionsmodus hinaus: Die intracerebrale Infizierung führte regelmäßig nach 3 bis 4 Wochen zur Erkrankung der Tiere, während bei den anderen Verabreichungsformen innerhalb der Versuchsdauer (max. 8 Wochen) keine klinisch apparenten Krankheitserscheinungen auftraten.

Bei den 12 intracerebral infizierten Kaninchen wurden folgende Ergebnisse erzielt: Serumantikörper ließen sich hier mit dem IIFT ab der 2., spätestens aber ab der 4. Woche p.inf. nachweisen. Zu diesem Zeitpunkt war mit einem mittleren Titer von 1:1723 (max. bis 1:10240) bereits der Höhepunkt der Antikörperbildung erreicht. Komplementbindende Antikörper traten erstmals in der 3. Woche auf, waren aber selbst nach 5 Wochen noch nicht bei allen Tieren vorhanden. Mit dem ID ließen sich bei einem Kaninchen ab der 3., bei 2 Kaninchen ab der 4. Woche Antikörper nachweisen. Neutralisierende Antikörper wurden in diesem Versuch nie gefunden. Gehirnantikörper konnten mit dem IIFT ab der 3. Woche festgestellt werden, der höchste Titer wurde mit 1:20480 in der 5. Woche erreicht. Die KBR verlief hier immer negativ. Zwei mittels IIFT in der 4. bzw. 5. Woche untersuchte Liquores enthielten Bornaantikörper bis zur Verdünnung von 1:2560 bzw. 1:1280. Infektiöses Virus wurde aus Gehirnen bereits in der 1. Woche p.inf. isoliert, der Virusgehalt hatte in der 3. Woche sein Maximum erreicht (Mittelwert 219500 I.E. in 1 ml einer 2%igen Gehirnsuspension) und fiel dann bei gleichzeitiger Zunahme der Gehirnantikörper wieder ab. Der Nachweis von komplementbindendem Antigen im Gehirn gelang ab der 2. Woche nahezu regelmäßig, und die Titer hatten im Durchschnitt bis zur 5. Woche ansteigende Tendenz (maximaler Wert 1:1280). Tabelle 4 enthält diese Ergebnisse im einzelnen; Abbildung 2 versucht graphisch einen Überblick über den angedeuteten Trend zu geben.

Nicht so gleichmäßig waren die Ergebnisse bei den 14 subcutan infizierten Kaninchen. Serumantikörper ließen sich hier bei 7 von 10 noch im Versuch befindlichen Tieren mit Hilfe des IIFT ab der 3. Woche nachweisen, ab der 5. Woche waren alle 8 verbliebenen Tiere positiv. Die Titer stiegen bis zur 6. Woche an und erreichten ein geometrisches Mittel von 1:1159. (Maximalwert war 1:10240). Mit der KBR wurden bei einem Kaninchen ab der 3. Woche

Tabelle 4: Auftreten und Verhalten von Virus und Antikörpern bei intracerebral infizierten Kaninchen

Kan. Nr.	Test	Wochen				
		1.	2.	3.	4.	5.
188	AK-Serum*: IIFT KBR ID NT	< 10 < 4 0 -***				
	AK-Liquor*: IIFT AK-Gehirn*: IIFT KBR	- < 10 < 40				
	Virus-Gehirn**: I.E. Ag-Gehirn: KBR*	350 < 40				
187	AK-Serum: IIFT KBR ID NT	< 10 < 4 0 -				
	AK-Liquor: IIFT AK-Gehirn: IIFT KBR	- < 10 < 40				
	Virus-Gehirn: I.E. Ag-Gehirn: KBR	< 25 < 40				
189	AK-Serum: IIFT KBR ID NT	- - - -	40 < 4 0 -			
	AK-Liquor: IIFT AK-Gehirn: IIFT KBR	- - -	- < 10 < 40			
	Virus-Gehirn: I.E. Ag-Gehirn: KBR	- -	5300 40			

*: reziproker Wert der letzten positiven Serum- bzw. Gehirnsuspensionsverdünnung;

** : infektiöse Einheiten in 1 ml einer 2%igen Gehirnsuspension,

***: nicht durchgeführt,

Tabelle 4, Fortsetzung

Kan. Nr.	Test	Wochen				
		1.	2.	3.	4.	5.
191	AK-Serum: IIFT	-	< 10	320		
	KBR	-	< 4	< 4		
	ID	-	0	0		
	NT	-	-	-		
	AK-Liquor: IIFT	-	-	-		
	AK-Gehirn: IIFT	-	-	10		
	KBR	-	-	< 40		
	Virus-Gehirn: I.E.	-	-	420000		
	Ag-Gehirn: KBR	-	-	640		
193	AK-Serum: IIFT	-	20	2560		
	KBR	-	< 4	32		
	ID	-	0	4		
	NT	-	-	-		
	AK-Liquor: IIFT	-	-	-		
	AK-Gehirn: IIFT	-	-	5120		
	KBR	-	-	< 40		
	Virus-Gehirn: I.E.	-	-	19000		
	Ag-Gehirn: KBR	-	-	< 40		
192	AK-Serum: IIFT	-	< 10	< 10	640	
	KBR	-	< 4	< 4	< 4	
	ID	-	0	0	0	
	NT	-	-	-	-	
	AK-Liquor: IIFT	-	-	-	-	
	AK-Gehirn: IIFT	-	-	-	40	
	KBR	-	-	-	< 40	
	Virus-Gehirn: I.E.	-	-	-	240000	
	Ag-Gehirn: KBR	-	-	-	80	

Tabelle 4, Fortsetzung

Kan. Nr.	Test	Wochen				
		1.	2.	3.	4.	5.
194	AK-Serum: IIFT	-	<10	80	2560	
	KBR	-	< 4	<4	8	
	ID	-	0	0	1	
	NT	-	-	-	<4	
	AK-Liquor: IIFT	-	-	-	-	
	AK-Gehirn: IIFT	-	-	-	40	
	KBR	-	-	-	<40	
	Virus-Gehirn: I.E.	-	-	-	165000	
	Ag-Gehirn: KBR	-	-	-	160	
195	AK-Serum: IIFT	-	<10	640	10240	
	KBR	-	< 4	4	32	
	ID	-	0	0	2	
	NT	-	-	-	<4	
	AK-Liquor: IIFT	-	-	-	2560	
	AK-Gehirn: IIFT	-	-	-	10240	
	KBR	-	-	-	<40	
	Virus-Gehirn: I.E.	-	-	-	2400	
	Ag-Gehirn: KBR	-	-	-	40	
148	AK-Serum: IIFT	<10	<10	320	5120	
	KBR	-	-	<4	8	
	ID	-	-	0	0	
	NT	-	-	-	<4	
	AK-Liquor: IIFT	-	-	-	-	
	AK-Gehirn: IIFT	-	-	-	20480	
	KBR	-	-	-	< 40	
	Virus-Gehirn: I.E.	-	-	-	18500	
	Ag-Gehirn: KBR	-	-	-	320	

Tabelle 4, Fortsetzung

Kan. Nr.	Test	Wochen				
		1.	2.	3.	4.	5.
149	AK-Serum: IIFT	< 10	< 10	640	640	
	KBR	-	-	< 4	< 4	
	ID	-	-	-	0	
	NT	-	-	-	< 4	
	AK-Liquor: IIFT	-	-	-	-	
	AK-Gehirn: IIFT	-	-	-	2560	
	KBR	-	-	-	< 40	
	Virus-Gehirn: I.E.	-	-	-	5250	
	Ag-Gehirn: KBR	-	-	-	320	
56	AK-Serum: IIFT	< 10	< 10	10	1280	2560
	KBR	-	-	< 4	< 4	8
	ID	-	-	0	0	0
	NT	-	-	-	-	< 4
	AK-Liquor: IIFT	-	-	-	-	-
	AK-Gehirn: IIFT	-	-	-	-	5120
	KBR	-	-	-	-	< 40
	Virus-Gehirn: I.E.	-	-	-	-	9250
	Ag-Gehirn: KBR	-	-	-	-	640
146	AK-Serum: IIFT	< 10	< 10	< 10	640	640
	KBR	-	-	< 4	< 4	< 4
	ID	-	-	0	0	0
	NT	-	-	-	-	< 4
	AK-Liquor: IIFT	-	-	-	-	1280
	AK-Gehirn: IIFT	-	-	-	-	20480
	KBR	-	-	-	-	< 40
	Virus-Gehirn: I.E.	-	-	-	-	23000
	Ag-Gehirn: KBR	-	-	-	-	1280

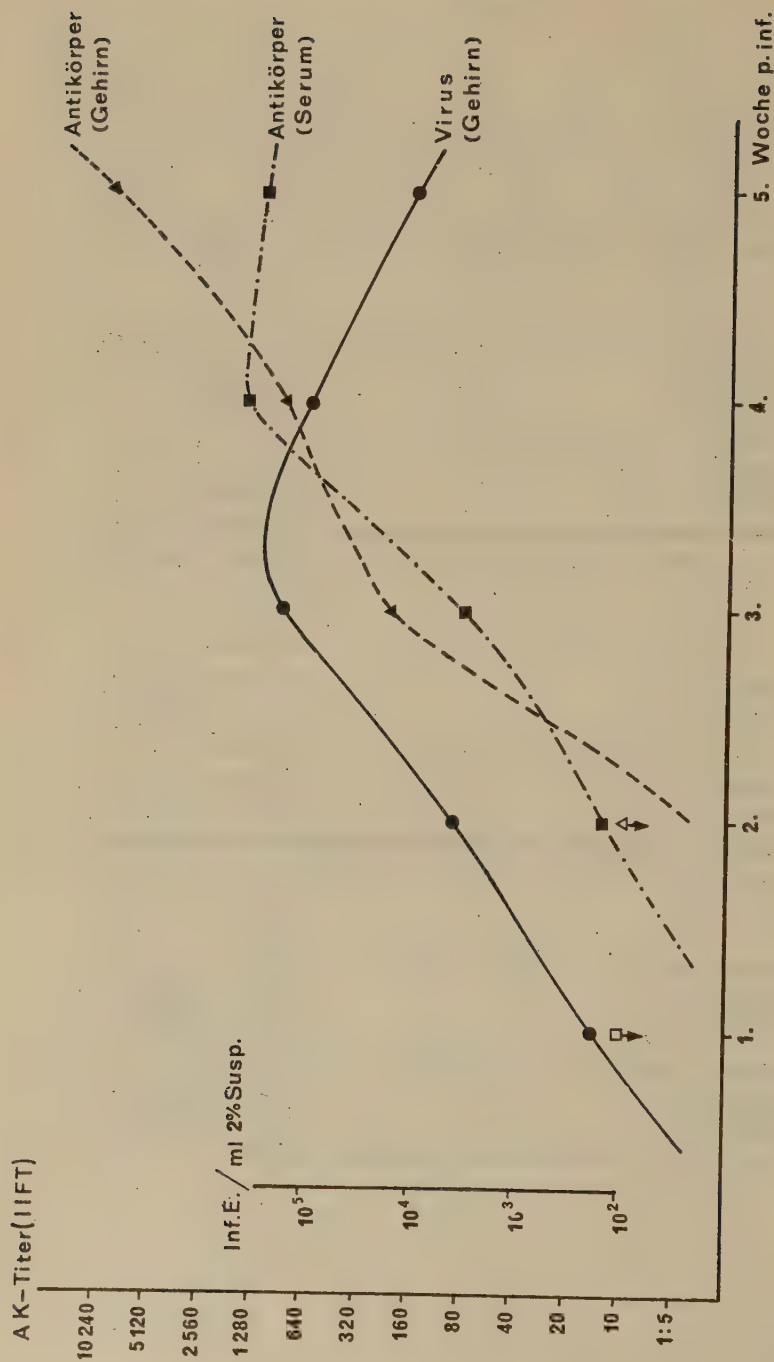


Abbildung 2: Kinetik der Virusvermehrung und Antikörperbildung bei intracerebral infizierten Kaninchen

□ Δ = unterhalb der Nachweisgrenze

Antikörper festgestellt, in der 8. Woche waren 2 von 3 verbliebenen Tieren positiv. Das dritte Kaninchen wies komplementbindende Antikörper nur vorübergehend in der 5. und 6. Woche auf. Erster Antikörpernachweis mit dem ID gelang bei einem Kaninchen in der 4. Woche, aber selbst in der 8. Woche hatten nicht alle Kaninchen die Nachweisgrenze erreicht. Neutralisierende Antikörper wurden nie gefunden. Antikörper im Gehirn ließen sich mit dem IIFT ab der 5. Woche darstellen und fanden sich bei allen 4 in der 6. Woche getöteten Kaninchen mit Titern bis 1:5120. Das Tier mit diesem hohen Titer (Nr. 96) hatte als einziges auch komplementbindende Antikörper im Gehirn. Von 4 Kaninchen mit relativ hohen Antikörpermengen in Serum und Gehirn wurden auch die Liquores mittels IIFT auf Antikörper untersucht. Zwei davon waren positiv (Titer 1:640, bzw. 1:2560), die beiden anderen enthielten keine Antikörper.

Infektiöses Virus im Gehirn ließ sich erstmals bei 3 von den 4 in der 6. Woche getöteten Tieren neben den Antikörpern nachweisen: seine Menge betrug im Durchschnitt 18994 I.E. pro ml 2%iger Gehirnsuspension. Der Nachweis von Antigenen mit der KBR war immer negativ. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 zusammengefaßt. Da sie in dieser Versuchsreihe stark schwankten, wurde kein Versuch einer graphischen Darstellung gemacht.

Noch unregelmäßiger reagierten die 12 intranasal infizierten Kaninchen. Serumantikörper konnten mit Hilfe des IIFT nur bei drei Tieren, und zwar bei einem (Nr. 89) ab der 3. Woche, bei zweien (Nr. 92 und 184) ab der 4. Woche dargestellt werden. Die Titerwerte stiegen im folgenden weiter an. Mit KBR und ID ließen sich nur bei einem einzigen Tier (Nr. 184) in der 5. Woche Antikörper nachweisen. Bei den übrigen Kaninchen verliefen KBR, ID und NT stets negativ.

Bei keinem der Tiere dieser Versuchsreihe traten während der Beobachtungszeit Antikörper im Gehirn auf. Auch der Nachweis von komplementbindendem Antigen gelang nie. Lediglich bei einem Kaninchen (Nr. 186), das in der zweiten Woche getötet wurde, fand sich eine geringe Menge von infektiösem Bornavirus; alle anderen Gehirne waren nicht infektiös. Die Ergebnisse im einzelnen sind der Tabelle 6 zu entnehmen.

Tabelle 5: Auftreten und Verhalten von Virus und Antikörpern bei subkutan infizierten Kaninchen

Kan. Nr.	Test	Wochen							
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
161	AK-Serum: IIFT	< 10							
	KBR	< 4							
	ID	0							
	NT	-							
	AK-Liquor: IIFT	-							
	AK-Gehirn: IIFT	< 10							
	KBR	< 40							
	Virus-Gehirn: i.E.	< 25							
	Ag-Gehirn: KBR	< 40							
162	AK-Serum: IIFT	< 10							
	KBR	< 4							
	ID	0							
	NT	-							
	AK-Liquor: IIFT	-							
	AK-Gehirn: IIFT	< 10							
	KBR	< 40							
	Virus-Gehirn: I.E.	< 25							
	Ag-Gehirn: KBR	< 40							
163	AK-Serum: IIFT	-	< 10						
	KBR	-	< 4						
	ID	-	0						
	NT	-	-						
	AK-Liquor: IIFT	-	-						
	AK-Gehirn: IIFT	-	< 10						
	KBR	-	< 40						
	Virus-Gehalt: I.E.	-	< 25						
	Ag-Gehirn: KBR	-	< 40						

Tabelle 5, Fortsetzung

Kan. Nr.	Test	Wochen							
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
172	AK-Serum: IIFT	-	<10						
	KBR	-	< 4						
	ID	-	0						
	NT	-	-						
	AK-Liquor: IIFT	-	-						
	AK-Gehirn: IIFT	-	<10						
170	KBR	-	<40						
	Virus-Gehalt: I.E.	-	<25						
	Ag-Gehirn: KBR	-	<40						
	AK-Serum: IIFT	-	-	10					
	KBR	-	-	< 4					
	ID	-	-	0					
165	NT	-	-	-					
	AK-Liquor: IIFT	-	-	-					
	AK-Gehirn: IIFT	-	-	< 10					
	KBR	-	-	< 40					
	Virus-Gehalt: I.E.	-	-	< 25					
	Ag-Gehirn: KBR	-	-	< 40					
165	AK-Serum: IIFT	-	<10	< 10	< 10				
	KBR	-	< 4	< 4	< 4				
	ID	-	0	0	0				
	NT	-	-	-	-				
	AK-Liquor: IIFT	-	-	-	-				
	AK-Gehirn: IIFT	-	-	-	< 10				
165	KBR	-	-	-	< 40				
	Virus-Gehalt: I.E.	-	-	-	< 25				
	Ag-Gehirn: KBR	-	-	-	< 40				

Tabelle 5, Fortsetzung

Kan. Nr.	Test	Wochen							
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
97	AK-Serum: IIFT	<10	<10	<10	320	640			
	KBR	-	-	< 4	< 4	8			
	ID	-	-	0	0	1			
	NT	-	-	-	-	< 4			
	AK-Liquor: IIFT	-	-	-	-	640			
	AK-Gehirn: IIFT	-	-	-	-	40			
	KBR	-	-	-	-	<40			
	Virus-Gehirn: I.E.	-	-	-	-	<25			
	Ag-Gehirn: KBR	-	-	-	-	<40			
95	AK-Serum: IIFT	<10	<10	40	160	160	320		
	KBR	-	-	< 4	< 4	< 4	< 4		
	ID	-	-	0	0	0	0		
	NT	-	-	-	-	-	< 4		
	AK-Liquor: IIFT	-	-	-	-	-	0		
	AK-Gehirn: IIFT	-	-	-	-	-	10		
	KBR	-	-	-	-	-	< 40		
	Virus-Gehirn: I.E.	-	-	-	-	-	< 25		
	Ag-Gehirn: KBR	-	-	-	-	-	< 40		
96	AK-Serum: IIFT	< 10	< 10	160	2560	1280	10240		
	KBR	-	-	4	16	64	128		
	ID	-	-	0	1	4	8		
	NT	-	-	-	-	-	< 4		
	AK-Liquor: IIFT	-	-	-	-	-	2560		
	AK-Gehirn: IIFT	-	-	-	-	-	5120		
	KBR	-	-	-	-	-	80		
	Virus-Gehirn: I.E.	-	-	-	-	-	3550		
	Ag-Gehirn: KBR	-	-	-	-	-	< 40		

Tabelle 5, Fortsetzung

[illegible]

Tabelle 5, Fortsetzung

Kan. Nr.	Test	Wochen							
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
173	AK-Serum: IIFT	-	< 10	< 10	< 10	20	320	320	2560
	KBR	-	< 4	< 4	< 4	4	4	4	8
	ID	-	0	0	0	0	0	0	4
	NT	-	-	-	-	-	-	-	-
	Liquor und Gehirn nicht untersucht								
174	AK-Serum: IIFT	-	< 10	< 20	1280	640	320	1280	1280
	KBR	-	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	4
	ID	-	0	0	0	0	0	1	1
	NT	-	-	-	-	-	-	-	-
	Liquor und Gehirn nicht untersucht								

Tabelle 6: Auftreten und Verhalten von Virus und Antikörpern bei intranasal infizierten Kaninchen

Kan. Nr.	Test	Wochen							
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
186	AK-Serum: IIFT	-	< 10						
	KBR	-	< 4						
	ID	-	0						
	NT	-	-						
	AK-Liquor: IIFT	-	-						
	AK-Gehirn: IIFT	-	< 10						
	KBR	-	< 40						
	Virus-Gehirn: I.E.	-	38						
	Ag-Gehirn: KBR	-	< 40						
177	AK-Serum: IIFT	-	< 10	< 10					
	KBR	-	< 4	< 4					
	ID	-	0	0					
	NT	-	-	-					
	AK-Liquor: IIFT	-	-	-					
	AK-Gehirn: IIFT	-	-	< 10					
	KBR	-	-	< 40					
	Virus-Gehirn: I.E.	-	-	< 25					
	Ag-Gehirn: KBR	-	-	< 40					
178	AK-Serum: IIFT	-	< 10	< 10					
	KBR	-	< 4	< 4					
	ID	-	0	0					
	NT	-	-	-					
	AK-Liquor: IIFT	-	-	-					
	AK-Gehirn: IIFT	-	-	< 10					
	KBR	-	-	< 40					
	Virus-Gehirn: I.E.	-	-	< 25					
	Ag-Gehirn: KBR	-	-	< 40					

Tabelle 6, Fortsetzung

Kan. Nr.	Test	Wochen							
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
179	AK-Serum: IIFT	-	< 10	< 10	< 10				
	KBR	-	< 4	< 4	< 4				
	ID	-	0	0	0				
	NT	-	-	-	-				
	AK-Liquor: IIFT	-	-	-	-				
	AK-Gehirn: IIFT	-	-	-	< 10				
	KBR	-	-	-	< 40				
	Virus-Gehirn: I.E.	-	-	-	< 25				
	Ag-Gehirn: KBR	-	-	-	< 40				
180	AK-Serum: IIFT	-	< 10	< 10	< 10				
	KBR	-	< 4	< 4	< 4				
	ID	-	0	0	0				
	NT	-	-	-	-				
	AK-Liquor: IIFT	-	-	-	-				
	AK-Gehirn: IIFT	-	-	-	< 10				
	KBR	-	-	-	< 40				
	Virus-Gehirn: I.E.	-	-	-	< 25				
	Ag-Gehirn: KBR	-	-	-	< 40				
184	AK-Serum: IIFT	-	< 10	< 10	1280	10240			
	KBR	-	< 4	< 4	< 4	64			
	ID	-	0	0	0	4			
	NT	-	-	-	-	-			
	Liquor, Gehirn nicht untersucht								
182	AK-Serum: IIFT	-	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10		
	KBR	-	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4		
	ID	-	0	0	0	0	0		
	NT	-	-	-	-	-	-		
	AK-Liquor: IIFT	-	-	-	-	-	-		
	AK-Gehirn: IIFT	-	-	-	-	-	< 10		
	KBR	-	-	-	-	-	< 40		
	Virus-Gehirn: I.E.	-	-	-	-	-	< 25		
	Ag-Gehirn: KBR	-	-	-	-	-	< 40		

3.2.3. Einsatz des indirekten Immunofluoreszenztestes zur serologischen Untersuchung geimpfter Pferde

In allen vorangegangenen Versuchen hatte sich der IIFT zum Nachweis von Bornaantikörpern als die Methode der Wahl erwiesen, und zwar sowohl bezüglich Sensibilität als auch hinsichtlich einer möglichst frühen serologischen Diagnose. Es sollte daher untersucht werden, ob der IIFT Auskunft über den Immunstatus nach Impfung geben kann. Zur Abklärung wurden Borna-geimpfte Pferde aus verschiedenen Beständen in Borna-Gegenden serologisch untersucht.

Grundsätzlich standen von den in der Impfperiode 1975/76 vakzinierten Pferde zwei Blutproben zur Verfügung: die erste wurde am Tag der Impfung entnommen, die zweite 8 Wochen später. Bei einem Teil der Tiere konnte zusätzlich nach weiteren acht Wochen eine dritte Probe untersucht werden, dafür fehlte bei einigen dieser Pferde die Probe am Tag der Impfung. Da ein Teil der Tiere im vorangegangenen Jahr geimpft worden war, die anderen aber nicht, gliedern sich die Pferde in folgende Gruppen:

- 1.) Vorgeimpfte Pferde, von denen die Blutprobe zur Zeit der Impfung vorlag,
- 2.) vorgeimpfte Pferde, von denen keine Blutprobe zur Zeit der Impfung vorlag,
- 3.) nicht vorgeimpfte Pferde, von denen die Blutprobe zur Zeit der Impfung vorlag,
- 4.) nicht vorgeimpfte Pferde, von denen keine Blutprobe zur Zeit der Impfung vorlag.

Von den 32 Pferden der Gruppe 1 (Tabelle 7) besaßen 2 bereits vor der Impfung Antikörper (Titer von 1:10); bei einem Tier veränderte sich der Wert im Beobachtungszeitraum nicht, bei den anderen nahm die Antikörpermenge nach der Impfung zu. Drei Tiere bildeten nach der Impfung Antikörper mit geringgradig ansteigender Tendenz aus.

In der 2. Gruppe (Tabelle 7) wiesen 4 Tiere in der 8. Woche Antikörper mit fallender Tendenz auf; ein weiteres Pferd entwickelte einen Antikörperanstieg. Alle übrigen 21 blieben negativ.

Bei den 18 Pferden der Gruppe 3 (Tabelle 8) hatte ein Pferd bereits am Impftag Antikörper, die nach 8 Wochen angestiegen waren. Zu diesem Zeitpunkt besaßen noch drei andere vorher negative Tiere Antikörper, während bei 14 Pferden keine Antikörper festgestellt werden konnten. In der 4. Gruppe (Tabelle 8) zeigte lediglich ein Tier in der 8. Woche Antikörper (negativ in der 16. Woche).

In Tabelle 7 sind die Einzelergebnisse der vorgeimpften Tier aufgezeigt, in Tabelle 8 die der nicht im Vorjahr geimpften Pferde. Faßt man alle 74 untersuchten Pferde zusammen, ergibt sich eine Nachweisrate von 20%, das heißt, 20% hatten mindestens bei einem Untersuchungstermin Bornaantikörper im Serum.

Tabelle 7: Nachweis von Bornaantikörpern bei revakzinieren Pferden

Name		Alter (Jahre)	am Impftag	Serumtiter 1:	
				8. Wo. p.vacc.	16 Wo. p.vacc.
Catania	G r u p p e 1	14	< 10	< 10	
Espada		4	< 10	20	< 10
Espagnole		5	< 10	< 10	
Esparsette		4	< 10	< 10	
Espe		5	< 10	< 10	
Estafette		7	10	40	80
Estland		7	< 10	< 10	
Essex		4	< 10	< 10	< 10
Estra		6	< 10	10	
Estragona		4	< 10	< 10	
Kordoba		10	< 10	< 10	
Koralle		13	< 10	< 10	
Kornblume		12	< 10	< 10	< 10
Kornelia		11	< 10	10	
Kosmea		11	< 10	< 10	
Prinzeß		15	< 10	< 10	
Reseda		14	< 10	< 10	
Sabatt		16	10	10	10
Sardistin		18	< 10	< 10	
Signore		16	< 10	< 10	
Sabine		18	< 10	< 10	
Suri		14	< 10	< 10	
Zdenka		17	< 10	< 10	
Janka		7	< 10	< 10	
Tommy		4	< 10	< 10	
Washito		8	< 10	< 10	
Herbstwind		3	< 10	< 10	
Maritta		6	< 10	< 10	
Susi		15	< 10	< 10	
Caroline		6	< 10	< 10	
Heron		5	< 10	< 10	

Tabelle 7, Fortsetzung

Name		Alter (Jahre)	am Impftag	Serumtiter 1: 8 Wo. p.vacc.	16 Wo. p.vacc.
Hexe		v 3		< 10	< 10
Esche		v 3		10	< 10
Marquis		6		< 10	< 10
Muro		8		< 10	< 10
Mortello		5		< 10	< 10
Hannibal		8		< 10	10
Master		7		< 10	< 10
Thora		9		< 10	< 10
Kosak		10		< 10	< 10
Illes	Gruppe 2	12		< 10	< 10
Florian		11		< 10	< 10
Figaro		10		< 10	< 10
Kobolt		11		20	< 10
Schwabenstreich		5		40	< 10
Pirri		9		< 10	< 10
Bub		4		< 10	< 10
Wimpel		6		< 10	< 10
Lauser		13		40	< 10
Per		4		< 10	< 10
Park		4		< 10	< 10
Larsak		4		< 10	< 10
Piros III.		10		< 10	< 10
Pardon II.		16		< 10	< 10
Hon I.		16		< 10	< 10
Csarkuzert III		25		< 10	< 10
Lattam		5		< 10	< 10

Tabelle 8: Nachweis von Bornaantikörpern bei erstmals vakzinierten Pferden

Name		Alter (Jahre)	am Impftag	Serumtiter 1:	
				8 Wo. p.vacc.	16 Wo. p.vacc.
J.v. Espagnole	Gruppe 3	1	< 10	< 10	
J.v. Estanzia		1	< 10	< 10	
J.v. Flicka		1	< 10	< 10	
J.v. Herta		1	< 10	< 10	
J.v. Komödie		1	< 10	< 10	
J.v. Kornähre		1	< 10	< 10	
J.v. Kornblume		1	< 10	< 10	
J.v. Kornelia		1	< 10	20	
J.v. Korretta		1	< 10	< 10	
J.v. Prinzeß		1	< 10	< 10	
Atom		4	< 10	< 10	
Nanni		13	10	80	
Grand Prix		10	< 10	< 10	
Forint		10	< 10	80	
Ma Cherie		4	< 10	20	
Gostja		5	< 10	< 10	
Sultan		6	< 10	< 10	
Languste		13	< 10	< 10	
Pirus	Gruppe 4	2		< 10	< 10
Csipke		2		< 10	< 10
Hang		2		< 10	< 10
Gyenkenng		2		< 10	< 10
Latuok		2		< 10	< 10
Pilango		2		< 10	< 10
Orion		?		40	< 10

4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Das Studium der Infektion mit dem Bornavirus war lange Zeit durch das Fehlen eines geeigneten Laborverfahrens zum Virusnachweis erschwert. Seit der gelungenen Viruszüchtung und -titrierung in Zellkulturen (MAYR und DANNER, 1972a, 1972b, 1974a) hat man auch bessere Einblicke in den pathogenetischen Ablauf der Bornavirusinfektion bei den verschiedenen, empfänglichen Spezies gewonnen (MAYR und DANNER, 1974b; DANNER, 1975a). Es fehlte bisher jedoch ein geeignetes System zur Untersuchung immunologischer Reaktionen. Obwohl die Komplementbindungsreaktion über Jahrzehnte gute Dienste geleistet hat, fielen immer wieder Unregelmäßigkeiten bei serologischen Untersuchungen auf. Es bestand daher die Notwendigkeit, durch den Einsatz empfindlicherer Systeme zu konstanteren Ergebnissen zu kommen.

Die vorliegenden Ergebnisse weisen nach, daß bei einer Bornainfektion neben komplementbindenden auch andere Antikörper auftreten können, nämlich mit der indirekten Fluoreszenz erfaßbare, präzipitierende und neutralisierende. Ganz wesentlich ist jedoch der Befund, daß sich mit dem indirekten Immunofluoreszenztest (IIFT) bei experimentell mit Bornavirus infizierten Tieren regelmäßig Antikörper nachweisen lassen. Im Vergleich dazu fiel die KBR nur etwa bei der Hälfte der Untersuchungen positiv aus. Zudem sind die Antikörpertiter in dem IIFT stets wesentlich höher (max. Titer 1:10240, geom. Mittel 1:348) als in der KBR (max. Titer 1:128, geom. Mittel 1:≤7).

Auch bei anderen persistierenden Infektionen des ZNS hat sich der IIFT als Methode der Wahl zum Antikörperrnachweis durchgesetzt, z.B. bei Visna-Maedi, Tollwut oder subakuter sklerosierender Panencephalitis (TERPSTRA und De BOER, 1973; ISHIZUKA et al., 1974; ter MEULEN et al., 1968). Ist in diesen Fällen der IIFT lediglich die sensibelste neben anderen Methoden, stellt er bei perinatal erworbener LCM sogar die einzige Möglichkeit zum Antikörperrnachweis dar (OLDSTONE und DIXON, 1967; HOTCHIN, 1971b). Hinzu kommt, daß der IIFT labortechnisch große Vorteile bietet: Vorgefertigte antigenhaltige Zellkulturpräparate können vorrätig gehalten werden und stehen bei Bedarf sofort zur Verfügung; besonders gut eignet sich hierfür die permanent mit Bornavirus infizierte RK₁₃-Zelllinie (MAYR und DANNER, 1974b); Vorversuche sind nicht notwendig;

die Durchführung der Technik selbst ist einfach und nimmt nicht viel mehr als zwei Stunden in Anspruch.

Prinzipiell ist auch der Immunodiffusionstest ein einfaches serologisches Verfahren. Bezüglich Bornainfektion ist er jedoch viel zu wenig sensibel (mindestens 350-fach weniger empfindlich als der IIFT), so daß er für den routinemäßigen Einsatz ungeeignet ist. Für spezielle Fragestellungen ist der Immunodiffusionstest insofern brauchbar, als die Reaktion nicht durch unspezifische Präzipitate beeinträchtigt zu sein scheint, wie dies z.B. bei der Schweinepest bei der Verwendung von Pankreas als Antigen der Fall ist (MATTHAEUS und KORN, 1975). Präzipitierende Seren von Borna-infizierten Kaninchen reagierten in keinem Fall mit Gehirnmateriel nicht infizierter Tiere.

Der Versuch, beim Bornavirus haemagglutinierende Eigenschaften nachzuweisen, gelang nicht. Möglicherweise war die verwendete Viruskonzentration zu gering. Man weiß z.B. vom Influenzavirus, daß eine Haemagglutination nur dann abläuft, wenn mindestens 10^7 Viruspartikel vorliegen (HOWE und LEE, 1972); beim Tollwutvirus sind mindestens 10^6 plaque-bildende Einheiten nötig (KUWERT, 1973). Das für die Haemagglutination verwendete Bornavirusmaterial enthielt lediglich $10^{4,7}$ infektiöse Einheiten pro ml, wobei nicht bekannt ist, wieviele Viruspartikel diesem Wert entsprechen. Auf jeden Fall müßten die Versuche zur Haemagglutination dann wiederholt werden, wenn die Möglichkeit einer gesteigerten Virusproduktion gegeben ist. Unabhängig vom Ausgang solcher Untersuchungen haben die vorliegenden Ergebnisse bewiesen, daß haemagglutinierendes Virusantigen auf keinen Fall in die Membran Borna-infizierter Zellen eingelagert wird. Der Versuch einer Haemadsorption zum Nachweis solcher Antigene ist eindeutig fehlgeschlagen. Unter Umständen hängt dies damit zusammen, daß Bornavirus stark zellassoziiert ist und wahrscheinlich keinen Replikationsschritt besitzt, der die Zellmembran einschließt (DANNER, 1975a), was Voraussetzung für die Haemadsorption wäre (VOGEL und SHELOKOV, 1957).

Die früher vertretene Auffassung, der Mangel an neutralisierenden Antikörpern sei ein Kriterium persistierender Virusinfektion, ist nicht mehr haltbar (HOTCHIN, 1971b). Bei Tollwut, Rhinopneumonitis, Herpes simplex oder progressiver multifokaler Leukoencephalopathie treten neutralisierende Antikörper auf (ISHIZUKA et al., 1974; DOLL und BRYANS, 1962; TOKUMARU und SCOTT, 1964). Bei der subakuten sklerosierenden Panencephalitis ist der Neutralisationstest nach dem IIFT sogar die empfindlichste Nachweismethode (ADELS et al., 1968). Bei der Bornaschen Krankheit sind Neutralisationsteste häufig versucht worden (ZWICK et al., 1928; NICOLAU und GALLOWAY, 1928; NITZSCHKE, 1963), hatten jedoch nicht zum Erfolg geführt. Die Versuche waren rein methodisch durch die Verwendung von Kaninchen als Titrationssystem erschwert. Der Einsatz von Zellkulturen hat nunmehr den Nachweis von neutralisierenden Antikörpern bei Borna-infizierten Kaninchen ermöglicht. Charakteristisch ist jedoch, daß sie nur nach mehrmaliger Infizierung (zum Zweck der Hyperimmunisierung) und nicht während der Erkrankungsphase nach einmaliger Infizierung auftreten. Möglicherweise ist dies eine Frage der Zeitdauer, in der das Virus im Organismus persistiert. Andererseits ist das Virus bei natürlicher oder experimenteller Infektion streng zellassoziiert (DANNER, 1975a) und kommt weniger in Kontakt mit dem Immunsystem als nach multipler Verabreichung von zellfreiem Virus in großen Mengen. Möglicherweise sind auch technische Bedingungen bei der Durchführung des Tests - Notwendigkeit von Drittfaktoren, z.B. Komplement (LERNER, 1970) - ausschlaggebend. Der Zusammenhang zwischen multipler Infizierung und dem Auftreten neutralisierender Antikörper läßt an die Möglichkeit denken, daß letztere für die Immunität verantwortlich sind.

Untersuchungen über den zeitlichen Ablauf der Antikörperbildung nach Borna-Infektion sind verschiedentlich durchgeführt worden und zwar stets mit der KBR. Bei Kaninchen konnte OTTA (1957) auf diese Weise bereits ab dem 7. Tag p.inf. Antikörper feststellen. SCHINNERER (1959) fand sie erstmals am 20. Tag p.inf. Bei erwachsenen Ratten treten komplementbindende Antikörper 4-6 Wochen p.inf. auf (NITZSCHKE, 1963). Diese unterschiedlichen Angaben beruhen möglicherweise auf verschiedenen Infektions-

dosen bzw. auf Speziesunterschieden. In den eigenen Versuchen ließen sich komplementbindende Antikörper bei experimentell infizierten Kaninchen frühestens ab der 3. Woche nachweisen. Ihr Auftreten ist jedoch unregelmäßig und ihre Menge nur gering. In einem Fall kam es nur zu einem vorübergehenden Anstieg in der 5. und 6. Woche nach subkutaner Infizierung.

Die parallel mit dem IIFT durchgeführten Untersuchungen zeigen wiederum die Überlegenheit dieser serologischen Methode. Der Antikörpernachweis gelang hiermit bei den i.cer. infizierten Kaninchen bereits in der 2. Woche p.inf. Nach einer Anstiegsphase war 4 Wochen p.inf. ein Plateau erreicht, das bis zum Tod der Tiere bzw. ihrer Tötung anhielt. Ähnlich lagen die Verhältnisse bei subkutaner Infizierung; auch wenn die Tiere nicht regelmäßig erkrankten, bildeten sie alle IIFT-Antikörper mit ansteigender Tendenz.

Die Verhältnisse bei intranasaler Infizierung sind dagegen unklar; keines der Versuchstiere erkrankte im Beobachtungszeitraum von 10 Wochen. Allerdings schien die Infektion bei einzelnen Tieren gehaftet zu haben, da sie nach 3 Wochen IIFT-Antikörper bildeten. Der geringe Infektionserfolg nach intranasaler Virusapplikation ist umso erstaunlicher, als anderen Autoren (BECK und FROHÖSE, 1926; ZWICK, SEIFRIED und WITTE, 1926/27; DRESCHER, 1929; MATTHIAS, 1955; HEINIG, 1958) entsprechende Versuche wenigstens in einigen Fällen gelangen. Das unregelmäßige Angehen einer intranasalen Infektion, die als natürlicher Infektionsmodus angesehen wird (ROLLE und MAYR, 1966), könnte andererseits die geringe Kontagiosität der Bornaschen Krankheit beim Pferd erklären.

Da spezifische Antikörper bei Borna-infizierten Tieren auch im Zentralnervensystem vorkommen und sich mittels IIFT demonstrieren lassen (DANNER 1976), wurden entsprechende Untersuchungen parallel zu denen des Serums durchgeführt. Bei intracerebral infizierten Kaninchen scheint die Virusvermehrung in Gehirn (bereits 1 Woche p.inf. nachzuweisen) zunächst das Auftreten und den Anstieg von Serumantikörpern zur Folge zu haben (ab der 2. Woche). Eine Woche später finden sich IIFT-Antikörper in großer Menge auch in Gehirn bzw. Liquor cerebrospinalis. Sie nehmen bis zum Tod des Tieres kontinuierlich zu, während gleichzeitig der Gehalt an infektiösem

Virus deutlich abnimmt. Es ist noch nicht klar, welche Rolle die Antikörper des Serums und des ZNS bei der Pathogenese der Bornainfektion spielen. Vor allem müßten auch die Verhältnisse bei den tolerierten (ANZIL et al., 1973) oder der langsam progredienten (NITZSCHKE, 1963) Infektionsformen studiert werden.

Die Vorzüge des IIFT vor anderen serologischen Verfahren ermunterten dazu, diese Technik auch zu epizootologischen Erhebungen und zur intravitalen Bornadiagnose einzusetzen. WAGNER (1970) hatte entsprechende Versuche mit der KBR unternommen und dabei praktisch keine Reagenten gefunden. Als Arbeitsgrundlage sollten nun Reihenuntersuchungen mit dem IIFT zunächst an Borna-geimpften Pferden durchgeführt werden. Hier schien die Chance, am natürlichen Wirt Antikörper nachzuweisen, am größten zu sein, da die Tiere sowohl in "Borna-Gegenden" stehen als auch durch die subkutane Impfung mit Lebendvakzine intensiven Kontakt mit dem Antigen hatten. Das Ergebnis war enttäuschend. Nur 20% der untersuchten Impflinge wiesen überhaupt Antikörper auf, und dann auch meist nur in minimalen Mengen und vorübergehend. Obwohl eine subkutane Infizierung mit virulentem Bornavirus auch nach Literaturangaben weder beim Kaninchen (ZWICK, SEIFRIED und WITTE, 1926/27; von SPROCKHOFF, 1958) noch beim Pferd (ZWICK, SEIFRIED und WITTE, 1926/27; OTTA, 1957) sicher zur Erkrankung führt, hatten die eigenen Versuche doch gezeigt, daß Kaninchen nach s.c. Inokulation regelmäßig IIFT-Antikörper bilden. Wenn beim Pferd nach der Bornaimpfung, die ja eine subkutane Infizierung mit virulentem Kaninchenvirus darstellt, Antikörper nur selten meßbar sind, könnte dies außer an Speziesunterschieden auch an technischen Bedingungen liegen. Was eine positive Reaktion im IIFT hinsichtlich Immunitätsstatus aussagen könnte, bleibt allerdings offen, da über die praktische Schutzwirkung der verschiedenen Antikörpertypen ebenso wie über zelluläre Abwehrmechanismen noch nichts bekannt ist.

Im Gegensatz zu experimentell infizierten Kaninchen scheinen Borna-krankte Pferde jedoch insgesamt weniger Antikörper zu bilden. Dies konnte bereits mit der KBR häufig festgestellt werden (OTTA, 1957; von SPROCKHOFF, 1954b) und gilt wohl auch für den IIFT. METZLER (1977) berichtet allerdings

von einem nachweislich Borna-kranken Pferd, das in dem IIFT einen Serum-antikörpertiter von 1:160 hat, in der KBR aber negativ blieb. Dieser Fall zeigt die Möglichkeit, die Bornasche Krankheit auch beim Pferd serologisch zu diagnostizieren, unterstreicht aber auch die Notwendigkeit, dabei einen sensiblen Test wie den IIFT einzusetzen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In Seren Bornavirus-infizierter Kaninchen lassen sich Antikörper prinzipiell mit Hilfe von indirekter Immunofluoreszenz (IIFT), Komplementbindungsreaktion (KBR), Immunodiffusion (ID) und Neutralisationstest (NT) nachweisen. Die Methode der Wahl ist jedoch der IIFT. Er ist einfach und rasch durchzuführen und konnte selbst geringe Mengen von Bornaantikörpern sicher nachweisen. Dagegen traten komplementbindende Antikörper nur etwa in 50% der IIFT-positiven Seren mit wesentlich niedrigeren Titern auf. Nur einige Seren enthielten geringe Mengen präzipitierender Antikörper. Neutralisierende Antikörper traten nur nach mehrfacher Hyperimmunisierung auf. Haemagglutinations- und Haemadsorptionshemmungstest eigneten sich nicht zum Antikörpernachweis, da dem Bornavirus entsprechende Eigenschaften fehlen.

Serumantikörper traten bei intracerebral mit Bornavirus infizierten Kaninchen bereits nach zwei Wochen auf. Eine Woche danach lagen Antikörper auch im ZNS vor. Auch sie ließen sich mittels IIFT optimal darstellen. Ihre Menge nahm bis zum Tod der Tiere zu, während die Infektiosität des Gehirns gleichzeitig abnahm.

Der Einsatz des IIFT für serologische Reihenuntersuchungen beim Pferd zeigte, daß nur etwa 20% Borna-geimpfter Tiere vorübergehend geringe Antikörpermengen ausbilden.

Summary

Various techniques are on principle suited for the demonstration of antibodies in rabbits infected with Borna virus: The indirect fluorescent antibody test (IFAT), the complement fixation test (CFT), the immunodiffusion (ID), and the neutralisation test. The optimal method, however, is the IFAT. This test is simple, quick, reliable and sensitive. CFT revealed antibodies only in about 50% of the IFAT-positive sera, showing significantly lower titres. Only a few sera contained small amounts of ID antibodies. Neutralizing activity only appears after multiple hyperimmunisation. Inhibition of hemagglutination and hemadsorption are not suited for the demonstration of Borna antibodies, since Borna virus lacks the respective properties.

Rabbits infected intracerebrally with Borna virus developed IFAT antibodies in their serum two weeks p.inf. One week later antibodies could also be found in the CNS. Their titres increased until death, whereas the infectivity of the brain decreased during this time.

The IFAT was adapted to a serological screening of horses vaccinated against Borna disease with live vaccine. Only 20% of the horses developed small amounts of antibodies.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ADAMS, J.M., und D.T. IMAGAWA, 1962: Measles antibodies in multiple sclerosis.
Soc. exp. Biol. Med. 111, 562-566.
2. ADELS, B.R., D.C. GAJDUSEK, C.J. GIBBS, P. ALBRECHT und N.G. ROGERS, 1968: Attempts to transmit subacute sclerosing panencephalitis and isolate a measles related agent with a study of the immune response in patients and experimental animals.
Neurology 18, 30-51.
3. ANZIL, A.P., K. BLINZINGER und A. MAYR, 1973: Persistent Borna virus infection in adult hamsters.
Arch. ges. Virusforsch. 40, 52-57.
4. APPEL, G., 1969: Pathogenesis in canine distemper.
Am. J. Vet. Res. 30, 1167-1182.
5. APPEL, M., 1970: Distemper pathogenesis in dogs.
J. Amer. vet. med. Ass. 156, 1681-1684.
6. APPEL, M.J.G., 1972: Diagnosis of canine distemper.
Tribuna Veterinaria, October 1972.
7. ARNOLD, R.M., und J. SALVATIERRA, 1974: Immunity against paralytic rabies in cattle following vaccination with ERA vaccine under ranch conditions in Bolivia. Part IV. Five-year post-vaccination studies.
Trop. Animal Hlth. Prod. 6, 199-201.
8. BACHMANN, P.A., G. HÄRTL, P. THEIN, B. BIBRACK und A. MAYR, 1972: Über das Vorkommen und die Verbreitung von Virusarten beim Pferd in der Bundesrepublik Deutschland, die bei respiratorischen Erkrankungen mitbeteiligt sein können.
Zbl. Vet. Med. B, 19, 801-813.

9. BARINGER, J.R., 1974: Recovery of herpes simplex virus from human sacral ganglions.
N. Engl. J. Med. 291, 828-830.
10. BARINGER, J.R., und P. SMOVELAND, 1973: Recovery of herpes-simplex virus from human trigeminal ganglions.
N. Engl. J. Med. 288, 468-650.
11. BARINGER, J.R., und P. SMOVELAND, 1974: Persistent herpes simplex virus infection in rabbit trigeminal ganglia.
Lab. Inves. 30, 230-240.
12. BARTH, R., W. BECKER, und O. JAEGER, 1971: Untersuchungen mit inaktivierten Tollwutgewebekulturimpfstoffen am Tier. II. Teil: Immunisierungsversuche an Rindern.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 84, 167-172.
13. BARTH, R., W. BECKER, O. JAEGER und B. TIEFENBACH, 1974: Experimentelle Erfahrungen bei der Tollwutschutzimpfung des Pferdes mit Madivak ad us. vet.
Blaue Hefte für den Tierarzt, 53, 84-88.
14. BASTIAN, F. O., A.S. RABSON, C.L. YEE und T.S. TRALKA, 1972: Herpes virus hominis: isolation from human trigeminal ganglion.
Science 178, 306-307.
15. BECK, A., und H. FROHBÜSE, 1926: Die enzootische Encephalitis des Schafes. Vergleichende experimentelle Untersuchungen über die seuchenhafte Gehirnrückenmarksentzündung der Pferde und Schafe.
Arch. wiss. prakt. Tierhkd. 54, 84-110.
16. BELL, J.F., D.L. LODMELL, G.J. MOORE und G.H. RAYMOND, 1966: Brain neutralization of rabies virus to distinguish recovered animals from previously vaccinated animals.
J. Immunol. 97, 747-753.

17. BELL, J.F., M.I. SACHO, A.M. DIAZ und G.J. MOORE, 1972: Nonfatal rabies in an enzootic area. Results of a survey and evaluation of techniques.
Amer. J. Epidem. 95, 190-198.
18. BENSON, L., und J. HOTCHIN, 1969: Antibody formation in persistent tolerant infection with lymphocytic choriomeningitis virus.
Nature, Lond. 222, 1045-1047.
19. BOER, G.F. De, 1975: Zwöegerzielte virus, the causative agent for progressive interstitial pneumonia (maedi) and meningo-leucoencephalitis (visna) in sheep.
Res. Vet. Sci. 18, 15-25.
20. BROWN, A.L., und R.E. McCARTHY, 1974: Relationship between measles and canine distemper viruses determined by delayed type hypersensitivity reactions in dogs.
Nature, Lond. 248, 344-345.
21. BROWN, P., F. CATHALA, D.C. GAJDUSEK und C.J. GIBBS, jr., 1971: Measles antibodies in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 137, 956-961.
22. BUDDINGH, G.J., D.I. SCHRUM, J.C. LANIER und D.J. GUIDRY, 1953: Studies of the natural history of herpes simplex infections.
Pediatrics 11, 595-610.
23. CARP, R.I., P.C. LICURSI, P.A. MERZ und G.S. MERZ, 1972: Decreased percentage of polymorphonuclear neutrophils in mouse peripheral blood after inoculation with material from multiple sclerosis patients.
J. exp. Med. 136, 618-629.
24. CARP, R.I., G.S. MERZ und P.C. LICURSI, 1974: Reduced cell yields of mouse cell line cultures after exposure to homogenates of multiple sclerosis tissues.
Infect. Immun. 9, 1011-1015.

25. CASPARY, E.A., 1977: Humoral factors involved in immune processes in multiple sclerosis and allergic encephalomyelitis.
Br. Med. Bull. 33, 50-53.
26. CHARLTON, K.M., D. MITCHELL, A. GIRARD und A.H. CORNER, 1976: Meningo-encephalomyelitis in horses associated with equine herpesvirus I infection.
Vet. Path. 13, 59-68.
27. COHEN, S.M., I.A. TRIANDAPHILLI, J.L. BARLOW und J. HOTCHIN, 1966: Immunofluorescent detection of antibody to lymphocytic choriomeningitis in man.
J. Immunol. 96, 777-784.
28. COLE, G.A., und N. NATHANSON, 1974: Lymphocytic choriomeningitis.
Prog. med. Virol., 18, 94-110.
29. COLE, G.A., N. NATHANSON und R.A. PRENDERGAST, 1972: Requirement for θ -bearing cells in lymphocytic choriomeningitis virus- induced central nervous system disease.
Nature, Lond. 238, 335-337.
30. CONOLLY, J.H., I.V. ALLEN, L.J. HURWITZ und J.H.D. MILLAR, 1967: Measles-virus antibody and antigen in subacute sclerosing pan-encephalitis.
Lancet 1, 542-544.
31. CRAIG, C.P. und A.J. NAHMIAS, 1973: Different patterns of neurologic involvement with herpes simplex viruses 1 and 2: isolation of herpes simplex virus type 2 from the buffycoat of two adults with meningitis.
J. Infect. Dis. 127, 365-472.
32. CUTLER, R.W.P. und D.R. AVERILL, 1969: Cerebrospinal fluid gamma globulins in canine distemper encephalitis.
Neurology 19, 1111-1114.

33. CUTLER, R.W., E. MERLER und J.P. HAMMERSTAD, 1968: Production of antibody by the central nervous system in subacute sclerosing panencephalitis.
Neurology 18, 129-132.

34. DANNER, K., 1975a: Borna Disease: Patterns of infection. First Workshop on Slow Virus Infections of the Central Nervous System. Würzburg, 23.-26. März.

35. DANNER, K., 1975b: Neues über das Borna-Virus.
Vortrag beim 11. Kongreß der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft. Bad Nauheim, 10.-12. April.

36. DANNER, K., 1976: Labordiagnose der Bornaschen Krankheit über den Nachweis von Antikörpern im Zentralnervensystem.
Zbl. Vet. Med. B. 23, 865-867.

37. DANNER, K., und P.A. BACHMANN, 1970: Vermehrung und Ausbreitung von Schweinepestvirus, Stamm München 1, in PK 15-Zellkulturen.
Zbl. Vet. Med. B. 17, 353-362.

38. DANNER, K., und A. MAYR, 1973: Fluoreszenzserologische Untersuchungen über das Auftreten von Borna-Virusantigen in Zellkulturen aus Gehirnexplantaten infizierter Kaninchen.
Zbl. Vet. Med. B. 20, 497-508.

39. DEBBIE, J.G., 1974: Use of inoculated eggs as a vehicle for the oral rabies vaccination of red foxes (*Vulpes fulva*).
Infect.Immun. 9, 681-683.

40. DINTER, Z., und B. KLINGEBORN, 1976: A serological study of an outbreak of paresis due to equid herpesvirus-1 (EHV-1).
Vet. Rec. 99, 10-12.

41. DOLL, E.R., und J.T. BRYANS, 1962: Development of complementfixing and virus-neutralizing antibodies in viral rhinopneumonitis of horses.
Am. J. vet. Res. 23, 843-846.

42. DOUGLAS, R.G.jr., und R.B. COUCH, 1970: A prospective study of chronic herpes simplex virus infection and recurrent herpes labialis in humans.
J. Immunol. 104, 289-295.
43. DRESCHER, L., 1929: Die Bornasche Krankheit des Pferdes als Gewährsmangel (Vertragsmangel). Ein gerichtl. Gutachten.
Münchn. tierärztl. Wschr. 80, 445-448, 459-462, 476-480.
44. GILDEN, D.H., G.A. COLE und N. NATHANSON, 1972: Immunopathogenesis of acute central nervous system disease produced by lymphocytic choriomeningitis virus. II. Adoptive immunization of virus carriers.
J. Exp. Med. 135, 874-889.
45. GILLESPIE, J.H., 1965: A study of inactivated distemper virus in the dog.
Cornell Vet. 55, 3-8.
46. GILLESPIE, J.H., J.A. BAKER, J. BURGHER, D. ROBSON und B. GILMAN, 1958: The immune response of dogs to distemper virus.
Cornell Vet. 48, 103-126.
47. GOUGH, P.M., und R.E. DIERKS, 1971: Passive haemagglutination test for antibodies against rabies virus.
Bull. WHO. 45, 741-745.
48. GOUGH, P.M., R.E. DIERKS, R.M. RUSSELL und B.G. ARCHER, 1974: Characterization of brain-associated rabies neutralizing substance.
J. infect. Dis. 129, 456-460.
49. GRUMBACH, K., J.R. BARINGER und T. KLASSEN, 1977: Herpes simplex antigen in CSF of rabbits.
Lancet I, 149.
50. GUDNADOTTIR, M., 1974: Visna-maedi in sheep.
Prog. med. Virolog. 18, 336-349.

51. GUDNADOTTIR, M., und K. KRISTINSDOTTIR, 1967: Complement-fixing antibodies in sera of sheep affected with visna and maedi.
J. Immunol. 98, 663-667.
52. GUDNADOTTIR, M., und P.A. PALSSON, 1967: Transmission of maedi by inoculation of a virus grown in tissue culture from maedi-affected lungs.
J. infect. Dis. 117, 1-6
53. FECHNER, J., 1955: Die Komplementbindungsreaktion bei experimentell mit Bornavirus infizierten Pferden.
Mhefte. Vet. med., Leipzig, 10, 553-556.
54. FITZGERALD, E.A., G.M. BAER, V.J. CABASSO und R.J. VALLANCOURT, 1975: A collaborative study of the potency testing of antirabies globulin.
J. Biol. Standard. 3, 273-278.
55. FUCCILLO, D.A., J.E. KURENT und J.L. SEVER, 1974: Slow virus diseases.
Ann. Rev. Microbiol. 28, 231-264.
56. FRASER, K.B., 1975: zit nach M. HAIRE, 1977.
57. FRASER, K.B., 1977: Multiple sclerosis: A virus disease?
Br.Med.Bull. 33, 34-39.
58. HAIRE, M., 1977: Significance of virus antibodies in multiple sclerosis.
Br.Med.Bull. 33, 40-44.
59. HEINEMAN, H.S., 1967: Herpes simplex neutralizing antibody - Quantitation of the complement-dependend fraction in different phases of adult human infection.
J. Immunol. 99, 214-222.
60. HEINIG, A., 1958: Zur Ausbreitung des Bornavirus im Zentralnervensystem.
Arch. exp. Veterinärmed. 12, 315-322.

71. JAEGER, O., O. ACKERMANN, R. BARTH und H. STEGMANN, 1973: Candivac, eine neue Kombinationsvaccine zur Schutzimpfung des Hundes. Blaue Hefte für den Tierarzt 51, 570-579.
72. JAWETZ, E., J.L. MELNIK und E.A. ADELBERG, 1968: Medizinische Mikrobiologie, 2. Auflage. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
73. JOHN, T.J., und V.A. FULGINITI, 1966: Parainfluenza 2 virus: Increase in hemagglutinin titer on treatment with Tween 80 and ether. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 121, 109-111.
74. JOHNSON, R.T., und R.M. HERNDON, 1974: Virologic studies on multiple sclerosis and other chronic and relapsing neurological diseases. Prog. med. Virol. 18, 214-228.
75. JOHNSON, W.D., und R.W. STORTS., 1972: Cell destruction associated with a viral-immune interaction in distemper viral infected tissue culture of canine brain. Fed. Proc. 31, 635.
76. KAPLAN, A.S., 1969: Herpes simplex and pseudorabies viruses. Virol. Monogr., Band 5, Springer Verlag, Wien - New York.
77. KARL, S.C., und H. THORMAR, 1971: Antibodies produced by rabbits immunized with visna virus. Infect. Immun. 4, 715-719.
78. KARZON, D.T., J. H. GILLESPIE und R.H. BUSSEL, 1961: Use of cell culture adapted canine distemper virus in the complement-fixation test. Amer. J. vet. Res. 22, 1069-1073.
79. KATZ, M., V. ter MEULEN, L. LEONHARD und H. KOPROWSKI, 1970: SSPE: A new serological test in the diagnosis of the disease. Pediat. Res. 4, 482.
80. KEEBLE, S.A., 1962: Living vaccines for the prevention of respiratory virus disease. Proc. Roy. Soc. Med. 55, 847.

81. KILCHSPERGER, G., U. GÜTZE und H. HARTMANN, 1973: Zur Vakzination von Haustieren gegen Tollwut. I. Vakzination von Hunden und Katzen. II. Vakzination von Rindern. Schweiz. Arch. Tierheilk. 115, 221-227, 257-262.
82. KNIGHT, S.C., 1977: Cellular immunity in multiple sclerosis. Br.Med.Bull. 33, 45-53.
83. KOESTNER, A., B. McCULLOUGH, G.S. KRAKOWKA, J.F. LONG und R.G. OLSEN, 1974: Canine distemper: a virus induced demyelinating encephalomyelitis. In: Slow virus diseases. Herausg.: E. Zeman and E.H. Lenette, S.86-101. The Wilkins and Williams Company, Baltimore, 1974.
84. KRAKOWKA, G.S., 1975: Immunologic studies of canine distemper virus infection in gnotobiotic dogs. Zit. nach Vet. Bull. 45, No. 6218 (1975).
85. KRAKOWKA, S., B. McCULLOUGH, A. KOESTNER und R. OLSEN, 1973: Myelin-specific autoantibodies associated with central nervous system demyelination in canine distemper virus infection. Infect. Immun. 8, 819-827.
86. KUWERT, E., 1973: Hemagglutination and hemagglutination inhibition. In: Laboratory techniques in rabies. Herausg.: M.M. Kaplan and H. Koprowski, 3. Auflage, WHO Genf.
87. LEIDER, W., R.L. MAGOFFIN, E.H. LENETTE und L.N.R. LEONARDS, 1965: Herpes simplex virus encephalitis- its possible association with reactivated latent infection. New.Engl. J.Med. 273, 341-347.
88. LEHMAN-GRUBE, F., 1971: Lymphocytic choriomeningitis virus. Virol. Monogr., Band 10, Springer Verlag, Wien-New York.

89. LENETTE, E.H., und R.W. EMMONS, 1971: The laboratory diagnosis of rabies: Review and prospective.
In: Rabies. Herausg.: Y. Nagano and F.M. Davenport, S. 77-90.
University Park Press, Baltimore-London-Tokyo.
90. LERNER, A.M., E.J. BAILEY und D.C. NOLAN, 1970: Complement-requiring neutralizing antibodies in herpes virus hominis encephalitis.
J. Immunol. 104, 607-615.
91. LINCOLN, S.D., J.R. GORHAM, W.C. DAVIS und R.L. OTT, 1973: Studies of old dog encephalitis. II. Electron microscopic and immunologic findings.
Vet. Pathol. 10, 124-129.
92. LINK, H., 1972: Oligoclonal immunglobulin G in multiple sclerosis brains.
J. Neurol. Sci. 16, 103-114.
93. LINK, H., 1973: Immunoglobulin abnormalities in multiple sclerosis.
Ann. Clin. Res. 5, 330-336.
94. LITTLE, P.B., und J. THORSEN, 1976: Disseminated necrotizing myeloencephalitis: a herpes associated neurological disease of horses.
Vet. Pathol. 13, 161-171.
95. LUDWIG, H., und H. BECHT, 1975: Borna disease and its causative agent.
Workshop on Slow Virus Infections of the Central Nervous System, Würzburg, 23-26. März.
96. LUDWIG, H., H. BECHT und L. GROH, 1973: Borna disease, a slow virus infection.
Med. Microbiol. Immunol. 158, 275-289.
97. MacCALLUM, F.O., I.J. CHINN und J.V.T. GOSTLING, 1974: Antibodies to herpes simplex virus in the cerebrospinal fluid of patients with herpetic encephalitis.
J. Med. Microbiol. 7, 325-331.

98. MATTHAEUS, W., und G. KORN, 1975: Das Verhalten von präzipitierenden Substanzen aus normalen Organen und Zellen im Vergleich zu dem der präzipitierenden Pankreasantigene mit Schweinepest infizierter Schweine.
Zbl.Vet. Med. B 22, 239-253.
99. MATTHIAS, D., 1955: Zur Epidemiologie der Bornaschen Krankheit.
Arch. exp. Veterinärmed. 9, 824-843.
100. MAYR, A., und K. DANNER, 1972a: In vitro-Kultivierung von Borna-Virus über Gehirn-Explantate infizierter Tiere.
Zbl. Vet. Med. B 19, 785-800.
101. MAYR, A., und K. DANNER, 1972b: Production of Borna virus in tissue culture.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 140, 511-515.
102. MAYR, A., und K. DANNER, 1974a: Züchtung und Titrierung von Borna-Virus in Zellkulturen aus Organen fötaler Lämmer.
Zbl.Vet.Med. B 21, 131-137.
103. MAYR, A. und K. DANNER, 1974b: Persistent infections caused by Borna virus.
Infection 2, 64-69.
104. MAYR, A., P.A. BACHMANN, B. BIBRACK und G. WITTMANN, 1977: Virologische Arbeitsmethoden, Band 2.
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
105. MAYR, A., H. KRAFT, O. JAEGER und H. HAACKE, 1972: Orale Immunisierung von Füchsen gegen Tollwut.
Zbl. Vet.Med.B 19 615-625.
106. McKENDALL, R.R., N. VOGELSANG und G.G. JACKSON, 1974: Herpes virus latency in spinal ganglion of mice without illness.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 146, 1093-1096.
107. METZLER, A., 1977: Die Diagnose der natürlichen Bornavirus-Infektion bei Schafen und Pferden. Ein Vergleich verschiedener Methoden.
Vet.Med. Diss., Zürich.

108. METZLER, A., U. FREI und K. DANNER, 1976: Virologisch gesicherter Ausbruch der Bornaschen Krankheit in einer Schafherde der Schweiz. Schweiz. Arch. Tierheilk. 118, 483-492.
109. MEULEN, V.ter., M. KATZ und D. MÖLLER, 1972a: Subacute sclerosing panencephalitis: a review. Curr. Topics. Microbiol. and Immunol. 57, 1-38.
110. MEULEN, V.ter., G. ENDERS-RUCKLE, D. MÖLLER und G. JÖPPICH, 1969: Immunhistological, microscopical and neurochemical studies on encephalitides. III. Subacute progressive panencephalitis. Virological and immunhistological studies. Acta neuropath. (Berl.) 12, 244-259.
111. MEULEN, V. ter., V. NEUHOFF, M.Y. KÄCKELL und G. JÖPPICH, 1968: Ist die subakute progressive Panencephalitis eine Masernerkrankung? Ein Beitrag zur Klinik, Morphologie und Ätiologie. Dtsch. med. Wschr. 27, 1303-1308.
112. MEULEN, V.ter., H.KO PROWSKI, Y. IWASAKI, Y.M. KÄCKELL und D. MÖLLER, 1972b: Fusion of cultured multiple sclerosis brain cells with indicator cells. Presence of nucleocapsids and virions and isolation of parainfluenza type virus. Lancet II 1-5.
113. MILLER, J.D., und C.A.C. ROSS, 1968: Encephalitis. A four-year survey. Lancet 1, 1121-1126.
114. NAHMIAS, A.J., und W.R. DOWDLE, 1968: Antigenic and biological differences in herpesvirus hominis. Prog. Med. Virol. 10, 110-159.
115. NARAYAN, O., J.B. PENNEY, jr., R.T. JOHNSON, R.M. HERNDON und L.P. WEINER, 1973: Etiology of progressive multifocal leukoencephalopathy. Identification of papovavirus. N. Engl. J. Med. 289, 1278-1282.

116. NEMO, J.G., J.A. BRODY und D.J. WATERS, 1974: Serological responses of multiple sclerosis patients and controls to a virus isolated from a multiple sclerosis case.
Lancet II, 1044.
117. NICOLAU, S., und I.A. GALLOWAY, 1928: Borna disease and enzootic encephalomyelitis of sheep and cattle.
Med. Res. Coun. Spec. Rep. Ser. 121, 7-90.
118. NICOLAU, S., I.A. GALLOWAY und N. STROIAN, 1929: L'immunité dans l'encéphalomyélite enzootique expérimentale.
C.R. Soc. Biol. Paris 100, 607-610.
119. NITZSCHKE, E., 1957: Über den Nachweis eines komplementbindenden Antigens und komplementbindender Antikörper bei weißen Ratten, Meerschweinchen und Pferden, die mit dem Virus der Bornaschen Krankheit infiziert wurde.
Zbl. Vet. Med. 4, 289-296.
120. NITZSCHKE, E., 1963: Untersuchungen über die experimentelle Bornavirus-Infektion bei der Ratte.
Zbl. Vet. Med. B 10, 470-527.
121. NOMURA, Y., 1971: Additional remarks.
In: Rabies, Herausg.: Y. Nagano and F.M. Davenport, S. 109-110.
University Park Press, Baltimore-London- Tokyo.
122. NORBY, E., H. LINK, J.E. OLSSON, M. PANELIUS, A. SALMI und B. VANDVIK 1974: Comparison of antibodies against different viruses in cerebrospinal fluid and serum samples from patients with multiple sclerosis.
Infect. Immun. 10, 688-694.
123. OLDSTONE, M.B.A. und F.J. DIXON, 1967: Lymphocytic choriomeningitis. Production of antibody by "tolerant" infected mice.
Science 158, 1193-1195.

124. OLDSTONE, M.B.A., und F.J. DIXON, 1969: Pathogenesis of chronic disease associated with persistent lymphocytic choriomeningitis viral infection. I. Relationship of antibody production to disease in neonatally infected mice.
J. exp. Med. 129, 483-505.
125. OLDSTONE, M.B.A., und F.J. DIXON, 1971: Lactic dehydrogenase virus-induced immune complex type of glomerulonephritis.
J. Immunol. 106, 1260-1263.
126. OLDSTONE, M.B.A., V.A. BOKISCH, F.J. DIXON, L.H. BARBOSA, D. FUCILLO und J.L. SEVER, 1975: Subacute sclerosing panencephalitis: Destruction of human brain cells by antibody and complement in an autologous system.
Clin. Immunol. and Immunopathol. 4, 52-58.
127. OLSSON, J.E., und H. LINK, 1973: Immunoglobulin abnormalities in multiple sclerosis.
Arch. Neurol. 28, 392-399.
128. OTTA, J., 1957: Die Komplementbindungsreaktion bei Meningo-Encephalomyelitis enzootica equorum.
Arch. exp. Vet. Med. 11, 235-252.
129. OUCHTERLONY, O., 1948: In vitro method for testing the toxin-producing capacity of diphtheria bacteria.
Acta path. microbiol. scand. 25, 186.
130. PADGETT, B.L., und D.L. WALKER, 1973: Prevalence of antibodies in human sera against JC-virus, an isolate from a case of progressive multifocal leukoencephalopathy.
J. Infect. Dis. 127, 467-470.

131. PADGETT, B.L., D.L. WALKER, G.M. ZURHEIN, R.J. ECKROADE, 1971:
Cultivation of papova-like virus from human brain with
progressive multifocal leukoencephalopathy.
Lancet I, 1257-60.
132. PETZOLD, K., 1974: Equine Herpesinfektionen, Infektionskrankheiten
und ihre Erreger. Band 15.
VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.
133. PLUMMER, G., 1973: Isolation of herpesvirus from trigeminal ganglia
of man, monkeys, and cats.
J. Infect. Dis. 128, 345-348.
134. RAWLS, W.E., 1973: Herpes simplex virus. In: The herpesviruses.
Herausg.: A.S. Kaplan, S. 291-325, Academic Press, New York-San
Francisco-London.
135. REHMAN, S.ur., 1972: Direkte Immunofluoreszenz zum Nachweis der Lymphocytären
Choriomeningitis (LCM).
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 79, 277-280.
136. RESSANG, A.A., und J.L. den BOER, 1967: Vortrag beim EWG-Treffen zur
Bekämpfung der Schweinepest, Tübingen, 21-22. Dez.
137. RICHARDSON, E.P., 1961: Progressive, multifocal leukoencephalopathy.
New Engl. J. Med. 265, 815.
138. ROBSON, D.S., R. KENNESON, J.H. GILLESPIE und T.F. BENSON, 1959:
zit. nach Appel, M.J.G. and J.H. Gillespie, 1972,
Canine distemper virus. *Virol. Monogr.*, Band 11, Springer Verlag
Wien-New York.

139. ROCKBORN, G., 1958: Further studies on viraemia and neutralizing antibodies in naturally acquired distemper in dogs.
Arch. ges. Virusforsch. 8, 500-510.
140. ROLLE, M., und A. MAYR, 1966: Mikrobiologie und Allgemeine Seuchenlehre.
3. Auflage, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.
141. ROSS, C.A.C., W.C. RUSSELL und P. WILDY, 1964: Herpes antigens from hamster kidney cell cultures in the diagnosis of primary and recurrent infection.
Arch. ges. Virusforsch. 15, 58-66.
142. RUSSELL, A.S., und A. SAERTRE, 1976: Antibodies to herpes simplex virus in "normal" cerebrospinal fluid.
Lancet I, 64-65.
143. SALMI, A.A., 1973: Virus antibodies in patients with multiple sclerosis.
Ann. Clin. Res. 5, 319-329.
144. SALMI, A., E. NORRBY und M. PANELIUS, 1972: Identification of different measles virus-specific antibodies in the serum and cerebrospinal fluid from patients with subacute sclerosing panencephalitis and multiple sclerosis.
Infect. Immun. 6, 248-254.
145. SCHINNERER, H., 1959: Untersuchungen über den Ablauf der Bornavirus-Infektion am Kaninchen unter besonderer Berücksichtigung der elektrophoretisch festgestellten Serumwerte, des Blutbildes, der komplementbindenden Antikörper, des Körpergewichtes und der Körpertemperatur.
Vet. med. Diss., Gießen.
146. SCHNEIDER, L.G., 1964: Erfahrungen mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern bei der routinemäßigen Laboratoriumsdiagnose der Tollwut. I.
Mitteilung: Die fluoreszierende Antikörper-Technik.
Zbl. Vet. Med., B 11, 207-230.

147. SCHNEIDER, L.G., und H. BURTSCHER, 1967: Untersuchungen über die Pathogenese der Tollwut bei Hühnern nach intracerebraler Infektion.
Zbl. Vet.Med. B 14, 598-624.
148. SCOTT, T.F. McN., 1957: Epidemiology of herpic infections.
Amer. J. Ophtal. 43, 134-146.
149. SCRIBA, M., 1976: Herpes simplex virus infections in guinea pigs: an animal model for studying latent and recurrent herpes simplex virus infection.
Infect.Immun 12, 162-165.
150. SEVER, J.L., und W. ZEMAN, 1968: Serological studies of measles and subacute sclerosing panencephalitis.
Neurology 18, 95-97.
151. SHADDUCK, J.A., K. DANNER und E. DAHME, 1970: Fluoreszenzserologische Untersuchungen über Auftreten und Lokalisation von Borna-Virus-antigen in Gehirnen experimentell infizierter Kaninchen.
Zbl. Vet. Med. B, 17, 453-459.
152. SHAH, K.V., 1972: Evidence for an SV-40-related papovavirus infection of man.
Am. J. Epidemiol. 95, 199-206.
153. SIGURDSSON, B., 1954: Observations on three slow infections of sheep. Maedi. Paratuberculosis. Rida.
Brit. vet. J. 110, 255-270.
154. SPROCKHOFF, H.v., 1954a: Untersuchungen über die Komplementbindungsreaktion bei der Bornaschen Krankheit.
Zbl. Vet. Med. 1, 494-503.
155. SPROCKHOFF, H.v., 1954b: Untersuchungen über den Nachweis von komplementbindenden Antikörpern bei bornavirus-infizierten Pferden und Kaninchen.
Zbl. Vet. Med. 1, 870-877.

156. SPROCKHOFF, H.v., 1958: Experimentelle Befunde bei der Bornaschen Krankheit.
Zschr. Imm. Forsch. 115, 161-168.
157. SPROCKHOFF, H.v.G.ROHDE und G.MEYER, 1975: Antigennachweis und Interferonbildung bei Bornavirus-infizierten Kaninchen.
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A. 232, 549-553.
158. STALDER, H., M.N. OXMAN, D.M. DAWSON und M.J. LEVIN, 1973: Herpes simplex meningitis: Isolation of herpes simplex virus type 2 from cerebrospinal fluid.
New. Engl. J. Med. 289, 1296-1298.
159. TANAKA, R., Y. IWASAKI und H. KOPROWSKI, 1975: Experimental parainfluenza-type-I-virus-induced encephalopathy in the adult mouse,
Am. J. Pathol. 79, 335-346.
160. TERPSTRA, C., und G.F. De BOER, 1973: Precipitating antibodies against maedi-visna virus in experimentally infected sheep.
Arch. ges. Virusforsch. 43, 53-62.
161. THOMPSON, E.J., 1977: Laboratory diagnosis of multiple sclerosis: Immunological and biochemical aspects.
Br. Med. Bull. 33, 28-33.
162. THORSEN, J., und P.B. LITTLE, 1975: Isolation of equine herpes virus type I from a horse with an acute paralytic syndrom.
Can. J. comp. Med. 39, 358-359.
163. TOKUMARU, T., und T.F. McN. SCOTT, 1964: The herpes virus group: Herpesvirus hominis, Herpesvirus simiae, Herpesvirus suis.
In: Diagnostic Procedures for Viral and Rickettsial Diseases.
Herausg.: E.H. Lenette und N.J. Schmidt, 3. Auflage, S. 381-433.
American Public Health Association, New York.

164. TOURTELLOTTTE, W.W., und J. A. PARKER, 1967: Multiple sclerosis: Brain immunoglobulin G and albumin.
Nature, 214, 683-686.
165. TOURTELLOTTTE, W.W., J.A. PARKER, R.M. HERNDON und C.V. CUADROS, 1968:
Subacute sclerosing panencephalitis: Brain immunoglobulin-G,
measles antibody and albumin.
Neurology 18, 117-121.
166. TRAUB, E., 1960a: Observations on immunological tolerance and "immunity"
in mice infected congenitally with the virus of lymphocytic
choriomeningitis (LCM).
Arch. ges. Virusforsch. 10, 303-314.
167. TRAUB, E., 1960b: Über die Immunologische Toleranz bei der lymphocytären
Choriomeningitis.
Zbl. Bakt. 177, 472-487.
168. TRAUB, E., 1975: Vortrag bei der Eröffnung des WHO Collaborating Centre
for Collection and Evaluation of Data on Comparative Virology, München,
14.-17. Okt.
169. VANDVIK, B., 1970: Immunological studies in subacute sclerosing pan-
encephalitis.
Acta neurol. scand. 46, Suppl. 43, 232.
170. VANDVIK, B., 1973: Immunopathological aspects in the pathogenesis of sub-
acute sclerosing panencephalitis, with special reference to the
significance of the immune response in the central nervous system.
Ann. Clin. Res. 5, 308-315.
171. VOGEL, J., und A. SHELOKOV, 1957: Adsorption-hemagglutination test for
influenza virus in monkey kidney tissue culture.
Science, 126, 358-359.
172. VOLKERT, M., K. BRO-JORGENSEN und O. MARKER, 1975: Persistent LCM
virus infection in the mouse.
Bull. WHO 52, 471-478.

173. WAGNER, D., 1970: Untersuchungen über die Verbreitung der Bornaschen Krankheit in Bayern und über das Vorkommen von Antikörpern im Serum von Pferden, Rindern, Schafen und Schweinen in Bornagebieten. Vet. Med. Diss., München.
174. WAGNER, K., H. LUDWIG und J. PAULSEN, 1968: Fluoreszenzserologischer Nachweis von Borna-Virus-Antigen. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 81, 395-396.
175. WALKER, D.L., B.L. PADGETT, G.M. ZÜRHEIN, A.E. ALBERT und R.F. MARSH, 1974: Current study of an opportunistic papovavirus. In: Slow Virus Diseases. Herausg.: W. Zeman und E.H. Lenette, S. 49-58. The Williams and Wilkins Company, Baltimore.
176. WATERSON, A.P., R. ROTT und G. RUCKLE-ENDERS, 1963: The components of measles virus and their relationship to rinderpest and distemper. Z. Naturforsch. 18 b, 377-384.
177. WEINER, L.P., R.M. HERNDON, O. NARAYAN und R.T. JOHNSON, 1972: Further studies of a simian virus 40-like isolated virus from human brain. J. Virol. 10, 147-149.
178. WEINER, L.P., und O. NARAYAN, 1973: A papovavirus isolated from patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. Ann. Clin. Res. 5, 279-282.
179. WIKTOR, T.J., 1970: zit nach H. Koprowski, Pre- and postexposure prophylaxis. In: Rabies, Herausg.: Y. Nagano and F.M. Davenport, S. 111-126. University Park Press, Baltimore-London-Tokyo, 1971.
180. WIKTOR, T.J., 1973: A radioimmune assay for rabies binding antibody. In: Laboratory Technics in Rabies. Herausg.: M.M. Kaplan und H. Kpprowski, 3. Auflage, WHO, Genf.
181. WINKLER, W.G., und G.M. BAER, 1976: Rabies immunization of red foxes with vaccine in sausage baits. Am.J. Epidemiol. 103, 408-415.

182. WISNIEWSKI, H.W., 1977: Immunopathology of demyelination in autoimmune diseases and virus infections.
Br. Med. Bull. 33, 54-59.
183. ZURHEIN, G.M., 1969: Association of papovavirions with a human demyelinating disease (progressive multifocal leukoencephalopathy).
Progr. med. Virol. 11, 185-247.
184. ZWICK, W., O. SEIFRIED und J. WITTE, 1926/27: Experimentelle Untersuchungen über die seuchenhafte Gehirn-Rückenmarksentzündung der Pferde (Bornasche Krankheit).
Zschr. Infkrkh. Haustiere, 30, 42-136.
185. ZWICK, W., O. SEIFRIED und J. WITTE, 1928: Weitere Untersuchungen über die seuchenhafte Gehirn-Rückenmarksentzündung der Pferde (Bornasche Krankheit).
Zschr. Infkrkh. Haustiere, 32, 150-179.

LEBENS LAUF

Am 7. Mai 1947 wurde ich, Klaus Otto Helmut Lüthgen, als viertes Kind des Dipl.-Volkswirtes Dr. Helmut Lüthgen und seiner Frau Anneliese, geb. Haarmann, in Gelsenkirchen geboren. Mein Vater verstarb 1949.

Ostern 1953 wurde ich in die Dahlbusch-Schule in Gelsenkirchen-Rott-
hausen eingeschult. Von 1958 bis 1966 besuchte ich das Schalker-
Gymnasium in Gelsenkirchen und wechselte anschließend in das Land-
schulheim Steinmühle in Cappel bei Marburg über, wo ich 1967 mein
Abitur ablegte. Anschließend leistete ich meinen Grundwehrdienst ab.

Vom Sommersemester 1969 bis zu meinem Staatsexamen im Mai 1975 stu-
dierte ich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München Tiermedizin.

Am 29. September 1975 erhielt ich meine Bestallung als Tierarzt.

Die vorliegende Arbeit begann ich im Juli 1975 am Institut für Medizin-
ische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin des Fachbereichs
Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität in München.

Bei der Bearbeitung des Themas wurde ich durch ein Stipendium nach dem
Graduiertenförderungsgesetz unterstützt.

Herrn Prof. Dr.Dr.h.c. A. Mayr möchte ich
für die Überlassung des Themas und die
hilfreiche Unterstützung danken.

Besonderer Dank gilt Herrn Dr. K. Danner
für Anleitung, wertvolle Anregungen und
freundschaftliche Hilfe.

Gleichzeitig danke ich auch seiner medizi-
nisch-technischen Assistentin Frau B. von
Restorff.

